

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

März 2007
Art.-Nr.: 500-7138, Rev.: D
© 2005, Abaxis, Inc., Union City, CA 94587 USA

1. Verwendungszweck

Die VetScan[®]-Pferdeprofil-Plus-Reagenzdisk für das VetScan Classic-Analysesystem und das VetScan VS2-Elektrolyt-Immunoassay- und Blutgas-Analysesystem verwendet Trocken- und Flüssigreagenzien für die quantitative *In-vitro*-Bestimmung von Albumin (ALB), Aspartat-Aminotransferase (AST), Harnstoffstickstoff (BUN), Gesamtcalcium (CA⁺⁺), Creatin-Kinase (CK), Creatinin (CRE), Gamma-Glutamyl-Transferase (GGT), Glucose (GLU), Gesamtbilirubin (TBIL), Gesamtprotein (TP), Kalium (K⁺), Natrium (Na⁺) und Gesamtkohlendioxid (tCO₂) in heparinisiertem Vollblut, heparinisiertem Plasma oder Serum.

2. Zusammenfassung und Erläuterung der Tests

Die VetScan-Pferdeprofil-Plus-Reagenzdisk und das VetScan-Classic-Analysesystem sowie das VetScan VS2-Elektrolyt-Immunoassay- und Blutgas-Analysesystem ergeben ein *In-vitro*-Diagnostiksystem, das den Veterinär bei der Diagnose der folgenden Störungen unterstützt:

| | |
|---|---|
| Albumin (ALB) | Leber- und Nierenerkrankungen. |
| Aspartat-Aminotransferase (AST) | Lebererkrankungen, einschließlich Hepatitis und Virusgelbsucht; Schock; Muskelschädigung. Wird in Verbindung mit CK zur Beurteilung von Muskelschädigungen herangezogen. |
| Harnstoffstickstoff (BUN) | Leber- und Nierenerkrankungen. |
| Calcium (CA⁺⁺) | Nebenschilddrüsen-, Knochen- und chronische Nierenerkrankungen; Tetanie |
| Creatin-Kinase (CK) | Muskelschädigung, Krampfanfälle, Herzkrankheiten; Hypothyroidismus; schwere Anstrengungen, körperliche Untätigkeit, reduzierte Muskelmasse. |
| Creatinin (CRE) | Nierenerkrankungen. |
| Gamma-Glutamyl-Transferase (GGT) | Lebererkrankungen, primäre und sekundäre Lebertumoren. |
| Glucose (GLU) | Diabetes, Hyperglykämie, Hypoglykämie, und Lebererkrankungen. |
| Gesamtbilirubin (TBIL) | Leberfunktionsstörungen. |
| Gesamtprotein (TP) | Dehydratation, Leber- und Nierenerkrankungen, Stoffwechsel- und Ernährungsstörungen. |
| Kalium (K⁺) | Glomeruläre oder tubuläre Nierenerkrankungen, Nebennierenrindeninsuffizienz, diabetische Ketoazidose, übermäßige intravenöse Kaliumtherapie, Sepsis, Panhypopituitarismus, <i>In-vitro</i> -Hämolyse, Hyperaldosteronismus, Mangelernährung, Hyperinsulinismus, metabolische Alkalose und gastrointestinale Verluste. |

Natrium (Na⁺)

Dehydratation, *Diabetes insipidus*, Verlust hypotoner Magen-Darm-Flüssigkeiten, Salzvergiftung, selektive Unterdrückung des Durstgefühls, Hautverluste, Verbrennungen, Schweißausbrüche, Hyperaldosteronismus, ZNS-Störungen, Verdünnungshyponatriämie, Verlusthyponatriämie und Wahnhyponatriämie sowie Syndrom der inadäquaten ADH-Sekretion.

Gesamtkohlendioxid (tCO₂)

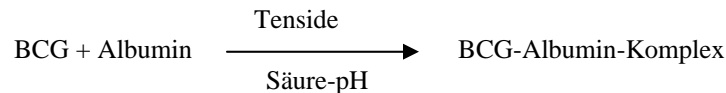
Primäre metabolische Alkalose und Azidose sowie primäre respiratorische Alkalose und Azidose.

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

3. Verfahrensprinzip

Albumin (ALB)

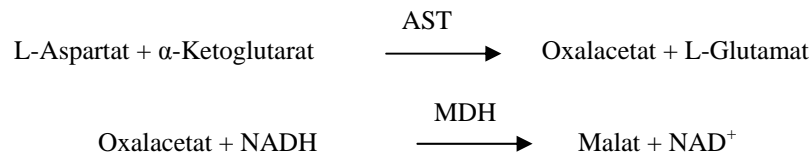
Farbstoffbindungstechniken sind die am häufigsten gebrauchten Methoden zur Bestimmung von Albumin. Unter den Farbstoffbindungsmethoden ist Bromkresolgrün (BCG) die am häufigsten eingesetzte.¹



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

Aspartat-Aminotransferase (AST)

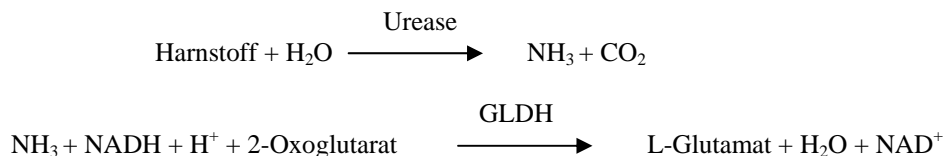
Die AST-Methode von Abaxis ist eine Abwandlung der IFCC-Referenzmethode.^{2,3} Bei dieser Methode wird die Reaktion von L-Aspartat und α -Ketoglutarat zu Oxalacetat und L-Glutamat katalysiert. Oxalacetat wird in Malat umgewandelt, und NADH wird durch das Enzym Malat-Dehydrogenase (MDH) zu NAD⁺ oxidiert.



Die durch die Umwandlung von NADH in 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.

Harnstoffstickstoff (BUN)

Das Abaxis-System verwendet eine gekoppelte Enzymreaktion. Bei dieser Reaktion wird Harnstoff durch Urease zu Ammoniak und Kohlendioxid hydrolysiert.⁴ Nach der Kopplung von Ammoniak mit 2-Oxoglutarat und reduziertem Nicotinamid-adenin-dinucleotid (NADH) oxidiert das Enzym Glutamat-Dehydrogenase (GLDH) NADH zu NAD⁺.

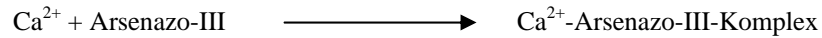


Die Änderungsgeschwindigkeit der Extinktionsdifferenz zwischen 340 nm und 405 nm hängt mit der Umwandlung von NADH zu NAD⁺ zusammen und ist direkt proportional zur Menge des in der Probe vorhandenen Harnstoffs.

Gesamtcalcium (CA⁺⁺)

Die Atomabsorptionsspektroskopie als Referenzmethode für Calcium ist für die Routine nicht geeignet.⁵ Spektralphotometrische Methoden, welche entweder *o*-Kresolphthalein-Complexon (CPC) oder Arsenazo-III-Metallochrom-Indikatoren verwenden, sind am weitesten verbreitet.⁶⁻⁸ Arsenazo III besitzt eine höhere Affinität für Calcium und ist weniger temperaturabhängig als CPC.

Das Calcium in der Patientenprobe bindet an Arsenazo-III und bildet einen Calcium-Farbstoffkomplex.



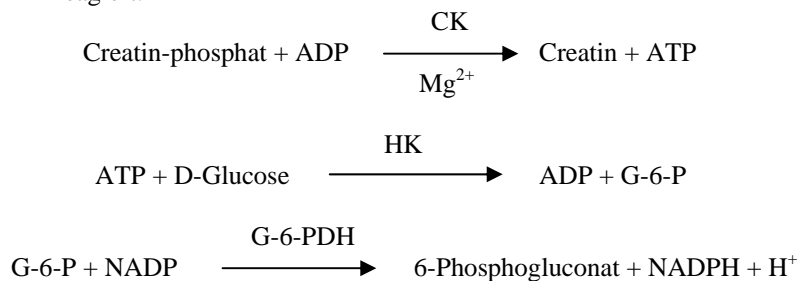
Die Endpunktreaktion wird bei 405 nm, 467 nm und 600 nm überwacht. Die Calciummenge in der Probe ist proportional zur Extinktion.

Creatin-Kinase (CK)

Creatin-Kinase katalysiert die reversible Phosphorylierung von Creatin durch Adenosin-triphosphat (ATP). Die Phosphorylierungsreaktion wird durch alkalische Bedingungen (optimaler pH-Wert: 9,0) begünstigt, die Dephosphorylierungsreaktion durch saure Bedingungen (optimaler pH-Wert: 6,5 bei 37 °C). Frühe Methoden zur CK-Bestimmung beruhten auf der „Hinreaktion“, bei der sich die Produkte Creatin-phosphat und Adenosin-diphosphat (ADP) ergaben.⁹⁻¹¹ Die Empfindlichkeit dieser Tests erwies sich auf Grund von Problemen mit Störfaktoren als niedrig. Das Verfahren der Wahl nutzt die „Umkehrreaktion“ in Verbindung mit einer NADPH produzierenden Reaktion, die in direktem Bezug zu den CK-Konzentrationen steht.¹²⁻¹⁴

Das von Abaxis angewandte Verfahren zur CK-Bestimmung ist eine Abwandlung der Methode der International Federation of Clinical Chemistry (IFCC).¹⁵ Wichtige Änderungen stellen Probenvolumenfraktion, Puffer und Temperatur dar. Zur Reaktivierung der CK wurde N-Acetylcystein (NAC) zugesetzt.¹⁶ 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 P¹, P⁵-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.

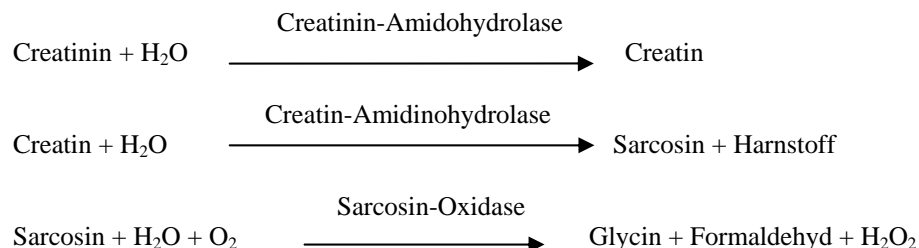
Creatin-Kinase katalysiert die Bildung von Creatin und ATP aus Creatin-phosphat und ADP bei einem pH-Wert von 6,7. Mit Hexokinase (HK) als Katalysator reagiert ATP mit D-Glucose unter Bildung von ADP und D-Glucose-6-phosphat (G-6-P), das bei Vorliegen von Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase (G-6-PDH) mit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

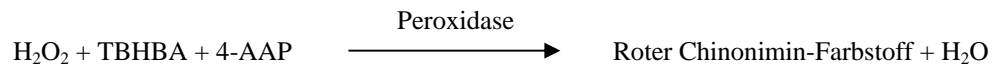


Die Bildung von NADPH wird als Extinktionsänderung bei 340 nm im Verhältnis zu 405 nm bestimmt. Diese Extinktionsänderung verhält sich direkt proportional zur Creatin-Kinase-Aktivität in der Probe.

Creatinin (CRE)

Die 1886 eingeführte Jaffe-Methode wird noch immer weithin zur Bestimmung der Creatinin-Spiegel im Blut eingesetzt. Die heutige Referenzmethode kombiniert den Einsatz von Fullererde (Floridin) mit der Jaffe-Technik, um eine Verbesserung der Reaktionsspezifität zu bewirken.^{17,18} Es wurden enzymatische Methoden entwickelt, die eine bessere Creatinin-Spezifität aufwiesen, als die verschiedenen Abwandlungen der Jaffe-Technik.^{19,20,21} Methoden mit dem Enzym Creatinin-Amidohydrolase eliminieren das Problem der Störungen durch Ammoniumionen, welches bei Verfahren mit Creatinin-Iminohydrolase auftritt.²²



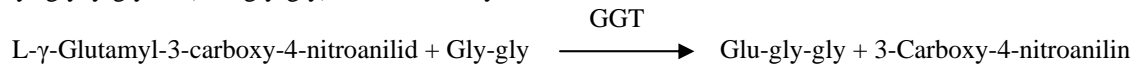


Die Creatinin-Konzentration in der Probe wird mit zwei Küvetten bestimmt. Das endogene Creatin wird in der Blindprobenküvette gemessen und von der Gesamtsumme aus endogenem Creatin und durch Enzymreaktionen in der Testküvette gebildetem Creatin subtrahiert. Wenn das endogene Creatin aus den Berechnungen entfernt ist, ist die Creatinin-Konzentration proportional zur Intensität der produzierten roten Farbe. Die Endpunktreaktion wird als die Extinktionsdifferenz zwischen 550 nm und 630 nm gemessen.

Gamma-Glutamyl-Transferase (GGT)

Die ersten zur Bestimmung von Gamma-Glutamyl-Transferase (GGT) entwickelten quantitativen Methoden umfassten eine zweite Reaktion zur Bildung eines mit einem Chromophor kombinierten Azofarbstoffs.^{23,24} Der Wechsel zu L-γ-Glutamyl-*p*-nitroanilid als Substrat bei der Reaktion machte den Farbstoffbildungsschritt überflüssig.²⁵ Auf Grund der schlechten Löslichkeit und Stabilität von L-γ-Glutamyl-*p*-nitroanilid wurde dieses Verfahren abgewandelt, so dass L-γ-Glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilid als Substrat verwendet wird.²⁶ Die von der International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) empfohlene GGT-Methode basiert auf letzterem Substrat, wobei Glycylglycin das andere Substrat darstellt.²⁷

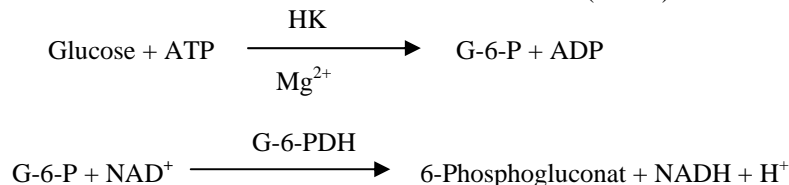
Abaxis hat die IFCC-Methode so abgewandelt, dass die Reaktion bei 37 °C erfolgt. Die Zugabe einer Probe mit Gamma-Glutamyl-Transferase-Gehalt zu den Substraten L-γ-Glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilid und Glycylglycin (Gly-gly) führt zur Bildung von L-γ-Glutamyl-glycylglycin (Glu-gly-gly) und 3-Carboxy-4-nitroanilin.



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

Glucose (GLU)

Die ersten Bestimmungen des Glucose-Spiegels wurden mit Kupferreduktionsmethoden (bspw. nach Folin-Wu und Somogyi-Nelson) durchgeführt.^{28,29,30} Die mangelnde Spezifität der Kupferreduktionstechniken führte zur Entwicklung quantitativer Verfahren unter Verwendung der Enzyme Hexokinase und Glucose-Oxidase. Bei dem Glucose-Test von Abaxis handelt es sich um eine Abwandlung der Hexokinase-Methode, die als Basis für die Glucose-Referenzmethode vorgeschlagen wurde.³¹ Die durch Hexokinase (HK) katalysierte Reaktion von Glucose mit Adenosin-triphosphat (ATP) ergibt Glucose-6-phosphat (G-6-P) und Adenosin-diphosphat (ADP). Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase (G-6-PDH) katalysiert die Umsetzung von G-6-P zu 6-Phosphogluconat und die Reduktion von Nicotinamid-adenin-dinucleotid (NAD⁺) zu NADH.



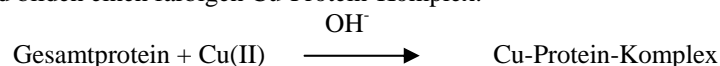
Gesamtbilirubin (TBIL)

Zur Bestimmung der Gesamtbilirubin-Konzentrationen wurden bisher meistens Tests eingesetzt, die diazierte Sulfanilsäure^{32, 33} oder das Enzym Bilirubinoxidase³⁴⁻³⁶ verwendeten. Die in dieser Disk zum Einsatz kommende Gesamtbilirubin-Testmethode nutzt eine direkte trichromatische photometrische Bestimmung der verdünnten Probe zur Ermittlung der Gesamtbilirubin-Konzentration. Die Primärwellenlänge für die Direktbestimmung von Gesamtbilirubin ist 467 nm. Zusätzliche Messungen bei 340 und 405 nm dienen zum Kompensieren von Extinktionen durch sonstige mögliche endogene Substanzen in der Probe. Der sich ergebende Extinktionswert bei 467 nm verhält sich direkt proportional zur Gesamtbilirubin-Konzentration auf der Grundlage der Kalibrierung von Bilirubin in Pferdeserum.

Gesamtprotein (TP)

Die Gesamtprotein-Methode ist eine Abwandlung der für ihre Präzision, Genauigkeit und Spezifität geschätzten Biuret-Reaktion.³⁷ Sie wurde ursprünglich von Riegler entwickelt und dann von Weichselbaum, Dumas *et al.* modifiziert. Die Biuret-Reaktion wird als mögliche Gesamtprotein-Referenzmethode erwägt.³⁸⁻⁴⁰

Bei der Biuret-Reaktion wird die Proteinlösung mit Kupfer(II)-Ionen in einem stark basischen Medium behandelt. Natriumkaliumtartrat und Kaliumiodid werden zugesetzt, um das Ausfällen von Kupferhydroxid bzw. eine Autoreduktion von Kupfer zu verhindern.³⁷ Die Cu(II)-Ionen reagieren mit Peptidbindungen zwischen den Carbonylsauerstoff- und Amidstickstoffatomen und bilden einen farbigen Cu-Protein-Komplex.

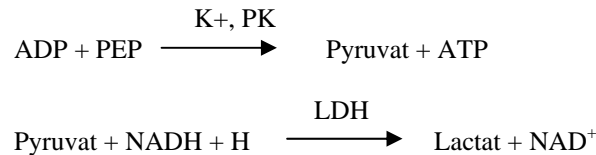


Die in der Probe vorhandene Menge an Gesamtprotein ist direkt proportional zur Extinktion des Cu-Protein-Komplexes. Der Gesamtprotein-Test ist eine Endpunktreaktion, wobei die Extinktion als Extinktionsdifferenz zwischen 550 nm und 850 nm gemessen wird.

Kalium (K⁺)

Es wurden spektralphotometrische Methoden entwickelt, die die Messung der Kaliumkonzentration mit Standardgeräten der klinischen Chemie ermöglichen. Eine auf der Aktivierung von Pyruvat-Kinase durch Kalium beruhende enzymatische Methode zeigt eine hervorragende Linearität und vernachlässigbare Anfälligkeit gegen endogene Substanzen.^{51,52,53} Störungen durch Natrium- und Ammoniumionen werden durch Zugabe von Kryptofix bzw. Glutamin-Synthetase minimiert.²⁰

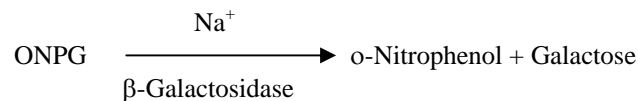
Bei der Reaktion mit gekoppelten Enzymen wird Phospho-enolpyruvat (PEP) durch Pyruvat-Kinase (PK) zu Pyruvat dephosphoryliert. Lactatdehydrogenase (LDH) katalysiert die Umwandlung von Pyruvat in Lactat. Damit einhergehend wird NADH zu NAD⁺ oxidiert.



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

Natrium (Na⁺)

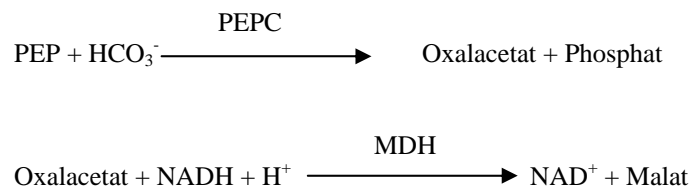
Es wurden kolorimetrische und enzymatische Methoden entwickelt, die die Bestimmung der Natrium-Konzentration mit Standardgeräten der klinischen Chemie ermöglichen.^{54, 55, 56} Bei der Enzymreaktion von Abaxis wird β-Galactosidase durch das Natrium in der Probe aktiviert. Das aktivierte Enzym katalysiert die Umsetzung von o-Nitrophenyl-β-D-galactopyranosid (ONPG) zu o-Nitrophenol und Galactose.



Gesamtkohlendioxid (tCO₂)

Das Gesamtkohlendioxid im Serum oder Plasma ist als gelöstes Kohlendioxid, Carbaminoderivate von Proteinen, Bicarbonat und Carbonationen sowie Kohlensäure vorhanden. Gesamtkohlendioxid kann mit Hilfe von pH-Indikatoren, CO₂-Elektroden- und spektralphotometrischen enzymatischen Methoden bestimmt werden, die ohne Ausnahme Ergebnisse hoher Genauigkeit und Präzision liefern.^{57, 58} Die enzymatische Methode eignet sich gut für den routinemäßigen Einsatz an einem Blutchemieanalysegerät, ohne das Verfahren komplizierter zu machen.

Bei der enzymatischen Methode wird die Probe zunächst alkalisch gestellt, um alle Formen von Kohlendioxid (CO₂) in Bicarbonat (HCO₃⁻) umzuwandeln. Phosphoenolpyruvat (PEP) und HCO₃⁻ reagieren dann miteinander und bilden in Gegenwart von Phosphoenolpyruvatcarboxylase (PEPC) Oxalacetat und Phosphat. Malat-Dehydrogenase (MDH) katalysiert die Umsetzung von Oxalacetat und reduziertem Nicotinamid-adenin-dinucleotid (NADH) zu NAD⁺ und Malat. Die Geschwindigkeit der Extinktionsänderung durch Umwandlung von NADH zu NAD⁺ ist direkt proportional zur Menge von tCO₂ in der Probe.



4. Funktionsprinzip

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

5. Beschreibung der Reagenzien

Jede VetScan-Pferdeprofil 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, Aspartat-Aminotransferase, Harnstoffstickstoff, Calcium, Creatin-Kinase, Creatinin, Gamma-Glutamyl-Transferase, Glucose, Gesamtbilirubin und Gesamtprotein. Die Disk enthält spezifische Blindproben für die Berechnung der Creatinin-, Gesamtbilirubin- und Gesamtprotein-Konzentrationen. Jede Reagenzdisk enthält außerdem ein aus Tensiden und Konservierungsmitteln bestehendes Verdünnungsmittel.

Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

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

Anweisungen zum Umgang mit Reagenzien

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

Lagerung

Die in ihren Beuteln eingeschweißten Reagenzdisks bei 2–8 °C (36–46 °F) lagern. Geöffnete oder ungeöffnete Disks vor direkter Sonneneinstrahlung und Temperaturen über 32 °C (90 °F) schützen. Die 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-Analysesystems eine Fehlermeldung.
- Bei einem aufgerissenen oder anderweitig beschädigten Folienbeutel kann Feuchtigkeit zur unbenutzten Disk vordringen und die Leistung der Reagenzien beeinträchtigen. Niemals Disks aus beschädigten Beuteln verwenden.

6. Gerät

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

7. Probennahme und -vorbereitung

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

- In heparinisierten Mikropipetten gesammelte Proben sind nach der Probennahme **sofort** in die Reagenzdisk einzubringen.
- Für Vollblut- oder Plasmaproben nur evakuierte Probensammelröhrchen mit Lithiumheparin (grüner Stopfen) verwenden. Für Serumproben nur evakuierte Probensammelröhrchen ohne Zusatz (roter Stopfen) oder Serumtrennröhrchen (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.⁴¹ Die getrennte Plasma- oder Serumprobe innerhalb von 5 Stunden nach der Zentrifugation analysieren. Sollte dies nicht möglich sein, die Probe in einem verschlossenen Teströhrchen maximal 48 Stunden lang bei 2–8 °C (36–46 °F) im Kühlschrank lagern. In Gefrierschränken ohne Selbstabtaufungsfunktion können Plasma- oder Serumproben bei -10 °C (14 °F) bis zu 5 Wochen lang gelagert werden.
- Die **Glucose**-Konzentration nimmt in nicht zentrifugierten, bei Raumtemperatur gelagerten Proben um etwa 5–12 mg/dl pro Stunde ab.⁴²
- Das Kühlen von Vollblutproben kann zu erheblichen Veränderungen der **Glucose**- und **Creatinin**-Spiegel führen.⁴³
- **Gesamtbilirubin**-Ergebnisse können durch fotochemischen Abbau negativ beeinflusst werden.⁴⁴ Nicht sofort analysierte Vollblutproben maximal 60 Minuten lang im Dunkeln lagern. Kann die Probe innerhalb dieses Zeitraums nicht analysiert werden, ist sie in Plasma oder Serum aufzutrennen und in einem verschlossenen Probenröhrchen bei niedrigen Temperaturen im Dunkeln aufzubewahren.⁴⁵
- Die Konzentration an Gesamtkohlendioxid lässt sich am genauesten bestimmen, wenn der Assay unmittelbar nach dem Öffnen des Röhrchens und so schnell wie möglich nach der Entnahme und Bearbeitung des Blutes im ungeöffneten Röhrchen erfolgt. Die Umgebungsluft enthält weit weniger Kohlendioxid als Plasma, und gasförmiges gelöstes Kohlendioxid entweicht aus der Probe in die Luft, wodurch sich der Kohlendioxidwert binnen einer Stunde um bis zu 6 mmol/l verringert.⁵⁹

Bekannte Störsubstanzen

- Das einzige zur Verwendung mit dem VetScan-Vollblut-Analysesystem empfohlene Antikoagulans ist Lithium-Heparin. Abaxis hat in Studien demonstriert, dass EDTA, Fluorid, Oxalat und Ammoniumionen enthaltende Antikoagulantien mindestens eine der Methoden der VetScan-Pferdeprofil-Plus-Reagenzdisk stören.
- Physiologische Störungen (Hämolyse, Ikterus und Lipämie) können zu Veränderungen der berichteten Konzentrationen einiger Analyten führen. Die Probenindizes werden unten auf jeder Ergebniskarte ausgedruckt, damit der Bediener weiß, welche Konzentration an Störsubstanzen in den einzelnen Proben vorliegen. Das VetScan-Analysesystem unterdrückt alle Ergebnisse, die auf Grund von Hämolyse, Lipämie oder Ikterus Störungen von mehr als 10 % aufweisen. In solchen Fällen wird auf der Ergebniskarte an Stelle des Ergebnisses „HEM“ (Hämolyse), „LIP“ (Lipämie) oder „ICT“ (Ikterus) ausgedruckt.
- Bilirubin kann die für die **Creatinin**-Reaktion verwendete Peroxidase beeinträchtigen.⁴⁶ Bei Bilirubin-Spiegeln von > 10 mg/dl sind die Creatinin-Ergebnisse niedriger.
- Die **Glucose**-Spiegel werden beeinflusst von der Zeitspanne seit der letzten Nahrungsaufnahme des Patienten sowie vom entnommenen Probenotyp. Zur genauen Interpretation der Glucose-Ergebnisse sind die Proben von einem Patienten zu nehmen, der mindestens 12 Stunden keine Nahrung aufgenommen hat.⁴⁷
- Beim Gesamtprotein-Test kann es zu Störungen kommen, wenn die analysierten Proben einen Lipämie-Index von 3 + aufweisen.⁴⁵ Proben mit Triglycerid-Konzentrationen von >400 mg/dl können erhöhte Gesamtprotein-Konzentrationen aufweisen. Das VetScan-Analysesystem unterdrückt alle Ergebnisse, die auf Grund von Lipämie Störungen von mehr als 10 % aufweisen. In solchen Fällen wird auf der Ergebniskarte an Stelle des Ergebnisses „LIP“ (Lipämie) ausgedruckt.
- Creatin-Kinase wird sowohl durch helles Tageslicht als auch durch Erhöhung des Proben-pH-Werts auf Grund von Kohlendioxidverlusten inaktiviert; daher sind die Proben in fest verschlossenen Röhrchen im Dunkeln zu lagern.⁴⁸
- 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+) messen. In diesen Fällen sind unerwartet hohe Kaliumwerte mit einer anderen Methode zu bestätigen.

8. Verfahren

Lieferumfang

- Eine VetScan-Pferdeprofil-Plus-Reagenzdisk, Art.-Nr.: 500-1043 (ein Karton mit 12 Disks, Art.-Nr.: 500-0043-12)

Benötigte Materialien, die nicht zum Lieferumfang gehören

- VetScan-Analysesystem

Testparameter

Für den Betrieb des VetScan-Systems sind Umgebungstemperaturen zwischen 15 und 32 °C (59 und 90 °F) erforderlich. Die Analysedauer für jede VetScan-Pferdeprofil-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-Analysesystem wird vor dem Versand vom Hersteller kalibriert. Der auf dem Barcode-Ring aufgedruckte Barcode enthält die diskspezifischen Kalibrierungsdaten für das Analysesystem. Hierzu bitte das Bedienungshandbuch für das VetScan-System einsehen.

Qualitätskontrolle

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

9. Ergebnisse

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

10. Verfahrensgrenzen

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

- **Ein den Assaybereich überschreitendes Ergebnis für einen bestimmten Test sollte mit einem anderen zugelassenen Testverfahren analysiert oder an ein Referenzlabor geschickt werden.**
- Proben, deren Hämatokrit ein Erythrozytenkonzentratvolumen von über 60 % umfasst, können ungenaue Ergebnisse erbringen. Solche Proben mit hohen Hämatokritwerten können als hämolysiert berichtet werden. Diese Proben können dann zum Erhalt von Plasma zentrifugiert und in einer neuen Reagenzdisk erneut getestet werden.

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

11. Erwartete Werte

Diese Normalbereiche werden lediglich als Richtlinie bereitgestellt. Am definitivsten sind die für die jeweilige Patientenpopulation ermittelten Referenzbereiche. Die Testergebnisse sind in Verbindung mit den klinischen Anzeichen des Patienten zu interpretieren. Angaben zum Anpassen spezifischer Normalbereiche der als „Other“ (andere) bezeichneten Methoden des VetScan-Analysegeräts enthält das Bedienungshandbuch für das VetScan-System (unter den Funktionen der Taste Menu [Menü]).

Tabelle 1: Referenzbereiche

| | Pferde | Hunde | Katzen |
|---|-------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|
| ALB | 2,2–3,7 g/dl (22–37 g/l) | 2,5–4,4 g/dl (25–44 g/l) | 2,2–4,4 g/dl (22–44 g/l) |
| AST | 175–340 E/l | 14–45 E/l | 12–43 E/l |
| BUN | 7–25 mg/dl (2,5–8,9 mmol/l) | 7–25 mg/dl (2,5–8,9 mmol/l) | 10–30 mg/dl (3,6–10,7 mmol/l) |
| CA⁺⁺ | 11,5–14,2 mg/dl (2,9–3,6 mmol/l) | 8,6–11,8 mg/dl (2,2–3,0 mmol/l) | 8,0–11,8 mg/dl (2,0–3,0 mmol/l) |
| CK | 120–470 E/l | 20–200 E/l | 50–450 E/l |
| CRE | 0,6–2,2 mg/dl (0,53–194 µmol/l) | 0,3–1,4 mg/dl (27–124 µmol/l) | 0,3–2,1 mg/dl (27–186 µmol/l) |
| GGT | 5–24 E/l | 0–7 E/l | 0–2 E/l |
| GLU | 65–110 mg/dl (3,6–6,1 mmol/l) | 60–110 mg/dl (3,3–6,1 mmol/l) | 70–150 mg/dl (3,9–8,3 mmol/l) |
| TBIL | 0,5–2,3 mg/dl (9–39 µmol/l) | 0,1–0,6 mg/dl (2–10 µmol/l) | 0. 1–0,6 mg/dl (2–10 µmol/l) |
| TP | 5,7–8,0 g/dl (57–80 g/l) | 5,4–8,2 g/dl (54–82 g/l) | 5,4–8,2 g/dl (54–82 g/l) |
| Kalium (K⁺) | 3,7–5,8 mmol/l | 3,7–5,8 mmol/l | 2,5–5,2 mmol/l |
| Natrium (Na⁺) | 138–160 mmol/l | 142–164 mmol/l | 126–146 mmol/l |
| Gesamtkohlen- dioxid (tCO₂) | 12–27 mmol/l | 15–24 mmol/l | 20–33 mmol/l |

12. Leistungsmerkmale (Linearität)

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

Tabelle 2: Dynamische Bereiche des VetScan-Systems

| Analyt | Dynamische Bereiche Gebräuchliche Einheiten | SI-Einheiten |
|------------------------|--|------------------------------|
| ALB | 1–6,5 g/dl | 10–65 g/l |
| AST | 5–2000 E/l | 5–2000 E/l |
| BUN | 2–180 mg/dl | 0,7–64,3 mmol Harnstoff/l |
| CA⁺⁺ | 4–16 mg/dl | 1,0–4,0 mmol/l |
| CRE | 0,2–20 mg/dl | 18–1768 µmol/l |
| CK | 5–14.000 E/l | 5–14.000 E/l |
| GGT | 5–3000 E/l | 5–3000 E/l |
| GLU | 10–700 mg/dl | 0,6–39 mg/dl |
| TBIL | 0,1–30 mg/dl | 1,7–513 µmol/l |
| TP | 2–14 g/dl | 20–140 g/l |
| K⁺ | 1,5–8,5 mmol/l | 1,5–8,5 mmol/l |
| Na⁺ | 110–170 mmol/l | 110–170 mmol/l |
| TCO₂ | 5–40 mmol/l | 5–40 mmol/l |

Präzision

Es wurden Präzisionsstudien durchgeführt, die den NCCLS-Richtlinien EP5-A⁴⁹ entsprachen (mit Änderungen gemäß NCCLS EP18-P⁵⁰ für am Behandlungsort eingesetzte Geräte). Die Ergebnisse für die Präzision innerhalb eines Laufs und die Gesamtpräzision wurden durch Testen von Kontrollmaterialien in 2 Konzentrationsstufen ermittelt.

Tabelle 3: Präzision

| Analyt | Probenumfang | Innerhalb eines Laufs | Gesamt |
|---|---------------------|------------------------------|---------------|
| Albumin-BCG (g/dl) | n=80 | | |
| <u>Kontrolle 1</u> | | | |
| Mittelwert | | 3,9 | 3,9 |
| SA | | 0,13 | 0,14 |
| % VK | | 3,3 | 3,6 |
| <u>Kontrolle 2</u> | | | |
| Mittelwert | | 2,3 | 2,3 |
| SA | | 0,09 | 0,10 |
| % VK | | 3,9 | 4,3 |
| Aspartat-Aminotransferase (E/l) n=80 | | | |
| <u>Kontrolle 1</u> | | | |
| Mittelwert | | 47 | 47 |
| SA | | 0,98 | 0,92 |
| % VK | | 2,1 | 2,0 |
| <u>Kontrolle 2</u> | | | |
| Mittelwert | | 145 | 145 |
| SA | | 1,83 | 1,70 |
| % VK | | 1,3 | 1,2 |
| Harnstoffstickstoff (mg/dl) | n=120 | | |
| <u>Kontrolle 1</u> | | | |
| Mittelwert | | 19 | 19 |
| SA | | 0,35 | 0,40 |
| % VK | | 1,8 | 2,1 |
| <u>Kontrolle 2</u> | | | |
| Mittelwert | | 65 | 65 |
| SA | | 1,06 | 1,18 |
| % VK | | 1,6 | 1,8 |
| Calcium (mg/dl) | n=80 | | |
| <u>Kontrolle 1</u> | | | |
| Mittelwert | | 8,6 | 8,6 |
| SA | | 0,21 | 0,25 |
| % VK | | 2,4 | 2,9 |
| <u>Kontrolle 2</u> | | | |
| Mittelwert | | 11,8 | 11,8 |
| SA | | 0,39 | 0,40 |
| % VK | | 3,3 | 3,4 |
| Creatinin (mg/dl) | n=80 | | |
| <u>Kontrolle 1</u> | | | |
| Mittelwert | | 1,1 | 1,1 |
| SA | | 0,14 | 0,14 |
| % VK | | 12,7 | 12,7 |
| <u>Kontrolle 2</u> | | | |
| Mittelwert | | 5,2 | 5,2 |
| SA | | 0,23 | 0,27 |
| % VK | | 4,4 | 5,2 |

Tabelle 3: Präzision (Fortsetzung)

| Analyt | Probenumfang | Innerhalb eines Laufs | Gesamt |
|--------------------------------|--------------|-----------------------|--------|
| Creatin-Kinase (E/l) | n=120 | | |
| <u>Kontrolle 1</u> | | | |
| Mittelwert | | 105 | 105 |
| SA | | 2,89 | 3,74 |
| % VK | | 2,8 | 3,6 |
| <u>Kontrolle 2</u> | | | |
| Mittelwert | | 469 | 469 |
| SA | | 12,23 | 28,32 |
| % VK | | 2,6 | 6,0 |
| Glucose (mg/dl) | n=80 | | |
| <u>Kontrolle 1</u> | | | |
| Mittelwert | | 66 | 66 |
| SA | | 0,76 | 1,03 |
| % VK | | 1,2 | 1,6 |
| <u>Kontrolle 2</u> | | | |
| Mittelwert | | 278 | 278 |
| SA | | 2,47 | 3,84 |
| % VK | | 0,9 | 1,4 |
| Gesamtbilirubin (mg/dl) | n=80 | | |
| <u>Kontrolle 1</u> | | | |
| Mittelwert | | 0,8 | 0,8 |
| SA | | 0,06 | 0,07 |
| % VK | | 7,5 | 8,8 |
| <u>Kontrolle 2</u> | | | |
| Mittelwert | | 5,2 | 5,2 |
| SA | | 0,09 | 0,15 |
| % VK | | 1,7 | 2,9 |
| Gesamtprotein (g/dl) | n=80 | | |
| <u>Kontrolle 1</u> | | | |
| Mittelwert | | 6,8 | 6,8 |
| SA | | 0,05 | 0,08 |
| % VK | | 0,7 | 1,2 |
| <u>Kontrolle 2</u> | | | |
| Mittelwert | | 4,7 | 4,7 |
| SA | | 0,09 | 0,09 |
| % VK | | 1,9 | 1,9 |
| Kalium (mmol/l) | n=80 | | |
| <u>Kontrolle 1</u> | | | |
| Mittelwert | | 6,7 | 6,7 |
| SA | | 0,26 | 0,26 |
| % VK | | 3,9 | 3,9 |
| <u>Kontrolle 2</u> | | | |
| Mittelwert | | 4,3 | 4,3 |
| SA | | 0,22 | 0,22 |
| % VK | | 5,1 | 5,1 |

Tabelle 3: Präzision (Fortsetzung)

| Analyt | Probenumfang | Innerhalb eines Laufs | Gesamt |
|------------------------------------|---------------------|------------------------------|---------------|
| Natrium (mmol/l) | n=80 | | |
| <u>Kontrolle 1</u> | | | |
| Mittelwert | | 148 | 148 |
| SA | | 5,1 | 5,1 |
| % VK | | 3,4 | 3,4 |
| <u>Kontrolle 2</u> | | | |
| Mittelwert | | 118 | 118 |
| SA | | 3,2 | 3,2 |
| % VK | | 2,7 | 2,7 |
| Gesamtkohlendioxid (mmol/l) | n=80 | | |
| <u>Kontrolle 1</u> | | | |
| Mittelwert | | 19 | 19 |
| SA | | 1,39 | 1,39 |
| % VK | | 7,3 | 7,3 |
| <u>Kontrolle 2</u> | | | |
| Mittelwert | | 9 | 9 |
| SA | | 0,60 | 0,60 |
| % VK | | 6,8 | 6,8 |

Korrelation

Es wurden Vor-Ort-Studien in einem veterinärmedizinischen Ausbildungskrankenhaus durchgeführt. Dabei wurden mit dem VetScan-Analysesystem und einer Vergleichsmethode Serumproben analysiert. Eine repräsentative Korrelationsstatistik ist in Tabelle 4 aufgeführt.

Tabelle 4: Korrelation des VetScan-Analysesystems mit Vergleichsmethode(n)

| | Proben- typ | Korrelations- koeffizient | Steigung | Schnittpunkt | N | Proben- bereich |
|--|----------------|------------------------------|----------|--------------|---------|--------------------|
| Albumin (g/dl) | Pferde | 0,89 | 0,99 | -0,6 | 7-101 | 1,2-3,2 |
| | Hunde | 0,96 | 0,99 | 0,1 | 22-180 | 1,3-4,6 |
| | Katzen | 0,75 | 1,02 | 0 | 21-55 | 2,1-4,8 |
| Aspartat- Aminotransferase (E/l) | Pferde | 1,00 | 0,94 | 16 | 7-101 | 107-1787 |
| | Hunde | 1,00 | 1,02 | 1 | 22-180 | 18-176 |
| | Katzen | 1,00 | 1,03 | 1 | 21-55 | 18-125 |
| Harnstoffstickstoff (mg/dl) | Pferde | 1,00 | 0,95 | -1 | 7-101 | 3-64 |
| | Hunde | 1,00 | 0,98 | -2 | 22-180 | 4-117 |
| | Katzen | 1,00 | 1,07 | -5 | 21-55 | 14-165 |
| Calcium (mg/dl) | Pferde | 0,94 | 1,18 | -0,8 | 7-101 | 7,2-15,1 |
| | Hunde | 0,84 | 1,24 | -1,9 | 22-180 | 7,3-13,0 |
| | Katzen | 0,77 | 1,24 | -2,1 | 21-55 | 6,3-12,4 |
| Creatin-Kinase (mg/dl) | Pferde | 1,00 | 0,97 | -2 | 7-101 | 69-14.000 |
| | Hunde | * | * | * | * | * |
| | Katzen | * | * | * | * | * |
| Creatinin (mg/dl) | Pferde | 0,95 | 1,00 | -0,4 | 7-101 | 0,3-6,2 |
| | Hunde | 0,99 | 1,00 | 0,0 | 22-180 | 0,6-10,6 |
| | Katzen | 1,00 | 1,01 | -0,1 | 21-55 | 0,3-13,6 |
| Gamma-Glutamyl- Transferase (E/l) | Pferde | 0,99 | 1,11 | 0 | 7-101 | 5-317 |
| | Hunde | 1,00 | 0,96 | 2 | 22-180 | 5-65 |
| | Katzen | * | * | * | * | * |
| Glucose (mg/dl) | Pferde | 0,97 | 0,94 | 16 | 7-101 | 36-353 |
| | Hunde | 0,96 | 1,01 | -6 | 22-180 | 28-348 |
| | Katzen | 1,00 | 0,97 | 3 | 21-55 | 52-607 |
| Gesamtbilirubin (mg/dl) | Pferde | 1,00 | 0,90 | 0,1 | 7-10 | 0,6-26,1 |
| | Hunde | 0,87 | 0,84 | 0,1 | 122-180 | 0,1-3,2 |
| | Katzen | 1,00 | 0,92 | -0,3 | 21-55 | 0,4-15,0 |
| Gesamtprotein (g/dl) | Pferde | 0,99 | 0,97 | 0,3 | 7-101 | 3,0-9,5 |
| | Hunde | 0,98 | 1,03 | 0,1 | 22-180 | 2,6-10,7 |
| | Katzen | 0,97 | 0,96 | 0,4 | 21-55 | 4,8-8,5 |
| Kalium (mmol/l) | Pferde | 0,84 | 0,97 | 0,1 | 7-101 | 1,8-4,6 |
| | Hunde | 0,96 | 0,92 | 0,4 | 22-180 | 3,2-6,9 |
| | Katzen | 0,91 | 0,92 | 0,5 | 21-55 | 2,7-5,3 |
| Natrium (mmol/l) | Pferde | 0,86 | 1,00 | -0,01 | 7-101 | 110-166 |
| | Hunde | 0,89 | 0,97 | 4,8 | 22-180 | 118-183 |
| | Katzen | 0,86 | 1,08 | -12,2 | 21-55 | 122-166 |
| Gesamtkohlen- dioxid (mmol/l) | Pferde | 0,97 | 0,93 | 2,1 | 7-101 | 9-39 |
| | Hunde | 0,81 | 0,86 | 3,5 | 22-180 | 6-23 |
| | Katzen | 0,93 | 0,90 | 2,4 | 21-55 | 7-31 |

* Nicht verfügbar

13. Literaturverzeichnis

1. Webster D, Bignell AHC, Atwood EC. An assessment on the suitability of bromocresol green for the determination of serum albumin. *Clin Chim Acta* 1974; 53: 101-108.
2. Bergmeyer HU, 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.
3. Bergmeyer HU, 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.
4. Sampson EJ, et al. 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.
5. Cali JP, et al. A reference method for the determination of total calcium in serum. *In: Cooper GR, ed., Selected Methods of Clinical Chemistry*, Washington, DC: American Association for Clinical Chemistry; 1977; Vol 8: 3-8.
6. Kessler G, Wolfman M. An Automated procedure for the simultaneous determination of calcium and phosphorus. *Clin Chem* 1964; 10: 686-703.
7. Michaylova V, Ilkova P. Photometric determination of micro amounts of calcium with arsenazo III. *Anal Chim Acta* 1971; 53: 194-8.
8. Scarpa A, et al. Metallochromic indicators of ionized calcium. *Ann NY Acad Sci* 1978; 307: 86-112
9. Kuby SA, Noda L, Lardy HA, Adenosinetriphosphate-Creatine Transphosphorylase. *J Biol Chem* 1954; 209: 191 - 201.
10. Tanzer MI, Gilvarg C, Creatine and creatine kinase measurement. *J Biol Chem* 1959; 01 - 3204.
11. Nuttall FQ, Wedin DS, Simple rapid colorimetric method for determination of creatine kinase activity. *J Lab Clin Med* 1966; 24 - 332.
12. Oliver IT, A spectrophotometric method for the determination of creatine phosphokinase and myokinase. *Biochem* 1955; J 61: 116 - 122.
13. Rosalki SB, An improved procedure or serum creatine phosphokinase determination, *J Lab Clin Med* 1967; 69: 696 - 705.
14. Szasz G, Gruber W, Bernt E, Creatine kinase in serum: I. Determination of optimum reaction conditions. *Clin Chem* 1976; 22: 650 - 656.
15. 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 - 174.
16. 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: 711-723.
17. Knoll VE, et al. Spezifische kreatininbestimmung im serum. *Z Klin Chemi Clin Biochem.* 1970; 8:582-587.
18. Haeckel R, et al. Simplified determinations of the "true" creatinine concentration in serum and urine. *J Clin Chem Clin Biochem* 1980; 18: 385-394.
19. Moss GA, Bondar RJL, Buzzelli DM, Kinetic enzymatic method for determining serum creatinine. *Clin Chem* 1975; 21:1422-1426.
20. Jaynes PK, Feld RD, Johnson GF. An enzymatic, reaction-rate assay for serum creatinine with a centrifugal analyzer. *Clin Chem* 1982; 28: 114-117.
21. Fossati P, Prencipe L, Berti G. Enzymatic creatinine assay: A new colorimetric method based on hydrogen peroxide measurement. *Clin Chem* 1983; 29: 1494-1496.
22. Whelton A, et al. Nitrogen Metabolites and Renal Function. *In: Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 3rd Ed. Burtis CA, Ashwood ER, Eds. Philadelphia: W.B. Saunders Company. 1999;1513-1575.
23. Ball EG, Revel JP, Cooper O. The quantitative measurement of γ -glutamyl transpeptidase activity. *J Biol Chem* 1956; 221: 895-908.
24. Goldbarg JA, et al. The colorimetric determination of γ -glutamyl transpeptidase with a synthetic substrate. *Arch Biochem Biophys* . 1960; 91: 61-70.
25. Orłowski M and Meister A. 1. γ -glutamyl-*p*-nitroanilide: A new convenient substrate for determination and study of *k*- and *d*- γ -glutamyltranspeptidase activities. *Biochem Biophys Acta* 1963; 73: 679-681.
26. Persijn JP, van der Slik W. A new method for the determination of γ -glutamyl- transferase in serum. *J Clin Chem Clin Biochem* 1976; 14: 421-427.
27. Shaw LM et al. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 4 IFCC method for γ -glutamyl-transferase. *J Clin Chem Clin Biochem* 1983; 21: 633-646.
28. Somogyi M. A reagent for the copper-idiometric determination of very small amounts of sugar. *J Biol Chem* 1937; 117: 771-776.
29. Nelson N. A photometric adaption of the Somogyi method for the determination of glucose. *J Biol* 1944; 153: 375-380.
30. Kaplan LA. Glucose. *In: Kaplan LA, Pesce AJ, eds. Clinical Chemistry: Theory, analysis, and correlation*, 2nd ed St. Louis: The C.V. Mosby Company; 1989; 850-856.
31. Overfield CV, Savory J, Heintges MG. Glycosis: A re-evaluation of the effect on blood glucose. *Clin Chim Acta.* 1972; 39: 35-40
32. Malloy HT, Evelyn KA. The determination of bilirubin with the photoelectric colorimeter. *J Biol Chem* 1937;119: 481-90.

33. Meites S. Bilirubin, directing reacting and total, modified Mally-Evelyn method. *In: Faulkner WR, Meites S, eds. Selected Methods of Clinical Chemistry, Washington, DC: American Association for Clinical Chemistry; 1982; 9:119-24.*
34. Murao S and Tanaka N. A new enzyme "bilirubin oxidase" produced by *Myrothecium verrucaria* MT-1. *Agric Biol Chem* 1981; 45: 2383-4.
35. Osaki S and Anderson S. Enzymatic determination of bilirubin. *Clin Chem* 1982; 30: 971. (Abstract)
36. Perry B, et al. Measurement of total bilirubin by use of bilirubin oxidase. *Clin Chem* 1986; 32: 329-32.
37. Koller A, Kaplan LA. Total serum protein. *In: Kaplan LA, Pesce AJ, eds., Clinical Chemistry: Theory, analysis, and correlation, 2nd ed. St Louis: The C.V. Mosby Company; 1989:1057-60.*
38. Reigler E. Eine kolorimetrische bestimmungsmethods des eiweisses. *Z Anal Chem* 1914; 53: 242-5.
39. Weicheselbaum TE. An accurate and rapid method for determination of proteins in small amounts of blood, serum, and plasma. *Am J Clin Path* 1946;16: 40-9.
40. Dumas BT, et al. A candidate reference method for determination of total protein in serum. I. Development and validation. *Clin Chem* 1981; 27:1642-50.
41. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Procedures for handling and processing of blood specimens; tentative standard. NCCLS document H18-A2. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
42. Overfield CV, Savory J, Heintges MG. Glycosis: A re-evaluation of the effect on blood glucose. *Clin Chim Acta* 1972; 39:35-40.
43. Rehak NN, Chiang BT. Storage of whole blood: Effect of temperature on the measured concentration of analytes in serum. *Clin Chem* 1988;34: 2111-14.
44. Sherwin JE, Obernolte R. Bilirubin. *In: Kaplan LA, Pesce AJ, eds. Clinical Chemistry: Theory, Analysis and Correlation, 2nd ed. St. Louis: The C.V. Mosby Company; 1989; 1009-1015.*
45. Henry RJ, Canon DC and Winkelman. *Clinical chemistry principles and technics, 2nd ed. New York: Harper and Row; 1974; 417-21; 127-8.*
46. Witte DL, Brown LF, Williams RL. Effects of bilirubin on detection of hydrogen peroxide by use of peroxidase. *Clin Chem* 1978; 24:1778-82.
47. Melnik J, Potter JL. Variance in capillary and venous glucose levels during glucose tolerance test. *Am J Med Tech* 1982; 48: 543-5.
48. Moss DW, Henderson AR. Enzymes. *In: Burtis CA, Ashwood ER, eds. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd edition. Philadelphia: WB Saunders Company. 1994; 804.*
49. 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
50. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Quality management for unit-use testing; proposed guideline. NCCLS Document EP18-P. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
51. 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.
52. 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.
53. Helgerson RC, et al. Host-guest Complexation. 50. Potassium and sodium ion-selective chromogenic ionophores. *J Amer Chem Soc* 1989; 111: 6339-6350.
54. 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.
55. Berry MN, et al. Enzymatic determination of sodium in serum. *Clin Chem* 1988; 34: 2295-2298.
56. Malloy HT and Evelyn KA. The determination of bilirubin with the photoelectric colorimeter. *J Biol Chem* 1937; 119: 481-490.
57. 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.*
58. Koller A, Kaplan LA. Total serum protein. *In: Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation, 2nd ed. Kaplan LA, Pesce AJ, eds. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 1057-1060.*
59. 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.