

For Veterinary Use Only
Customer and Technical Service 1-800-822-2947

May 2006
PN: 500-7128, Rev: B
© 2005 Abaxis, Inc. Union City, CA 94587

1. Intended Use

The VetScan[®] Mammalian Liver Profile reagent rotor used with the VetScan Chemistry Analyzer utilizes dry and liquid reagents to provide veterinary *in vitro* quantitative determinations of alanine aminotransferase (ALT), albumin (ALB), alkaline phosphatase (ALP), bile acids (BA), total bilirubin (TBIL), total cholesterol (CHOL), gamma glutamyl transferase (GGT), and (blood) urea nitrogen (BUN) in heparinized whole blood, heparinized plasma, or serum.

2. Summary and Explanation of Tests

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

Alanine Aminotransferase (ALT)	Liver diseases; including viral hepatitis and cirrhosis; heart diseases.
Albumin (ALB)	Liver and kidney disease.
Alkaline Phosphatase (ALP)	Liver, bone, parathyroid and intestinal diseases.
Bile Acids (BA) shunting.	Hepatobiliary disease; portosystemic vascular anomaly (PSVA); extrahepatic
Total Bilirubin (TBIL)	Hepatic disorders.
Total Cholesterol (CHOL)	Detection of hyperlipidemia; screening test for hypothyroidism and hyperadrenocorticism.
Gamma Glutamyl Transferase (GGT)	Liver disease, primary and secondary liver tumors
Blood Urea Nitrogen (BUN)	Liver and kidney diseases.

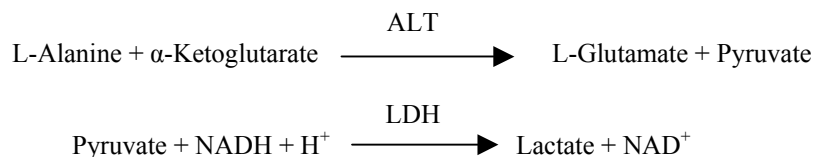
As with any diagnostic test procedure, all other test procedures including the clinical status of the patient should be considered prior to final diagnosis.

3. Principles of Procedure

Alanine Aminotransferase

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

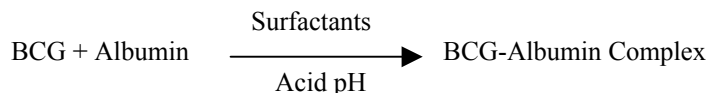
In this reaction, ALT catalyzes the transfer of an amino group from L-alanine to α -ketoglutarate to form L-glutamate and pyruvate. Lactate dehydrogenase catalyzes the conversion of pyruvate to lactate. Concomitantly, NADH is oxidized to NAD⁺, as illustrated in the following reaction scheme.



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

Albumin

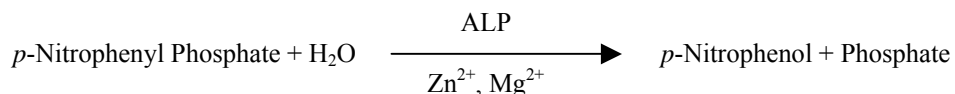
Dye binding techniques are the most frequently used methods for measuring albumin. Bromocresol green (BCG) is the most commonly used of the dye binding methods.³



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.

Alkaline Phosphatase

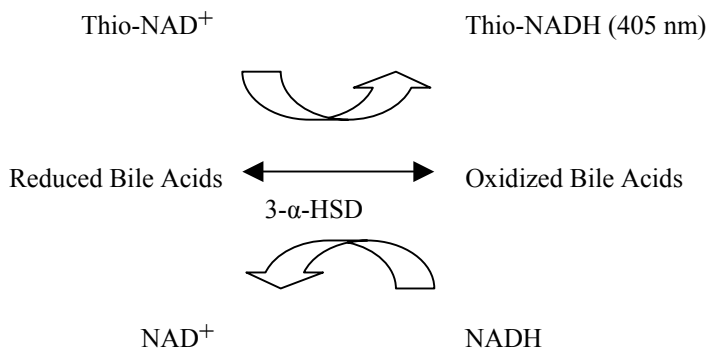
The VetScan procedure is modified from the AACC and IFCC methods.⁴ Alkaline phosphatase hydrolyzes *p*-NPP in a metal-ion buffer and forms *p*-nitrophenol and phosphate. The use of *p*-nitrophenyl phosphate (*p*-NPP) increases the speed of the reaction.^{5,6} The reliability of this technique is greatly increased by the use of a metal-ion buffer to maintain the concentration of magnesium and zinc ions in the reaction.⁷ The American Association for Clinical Chemistry (AACC) reference method uses *p*-NPP as a substrate and a metal-ion buffer.⁸



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

Bile Acids

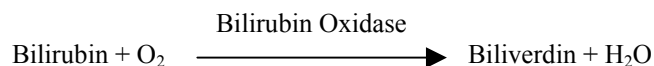
In the presence of the thio-derivative of nicotinamide adenine dinucleotide (Thio-NAD⁺) the enzyme 3- α -Hydroxysteroid Dehydrogenase (3- α -HSD) reversibly oxidizes bile acids to oxidized bile acids (3- α -keto forms) with the concomitant conversion of Thio-NAD⁺ to its reduced form (Thio-NADH). In a cycling reaction, the oxidized bile acids are returned to their reduced state when excess NADH is present. The NADH is converted to NAD⁺. In the Abaxis system, Thio-NAD⁺, NADH, and 3- α -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.



Total Bilirubin

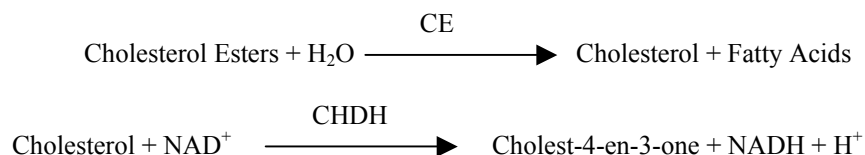
Total bilirubin levels have been typically measured by tests that employ diazotized sulfanilic acid.^{9,10} A newer, more specific method has been developed using the enzyme bilirubin oxidase.¹¹⁻¹³ In addition to using the more specific total bilirubin test method, photodegradation of the analyte is minimized on the analyzer because the sample can be tested immediately after collection.

In the enzymatic procedure, bilirubin is oxidized by bilirubin oxidase into biliverdin. Bilirubin is quantitated as the difference in absorbance between 467 nm and 550 nm. The initial absorbance of this endpoint reaction is determined from the bilirubin blank cuvette and the final absorbance is obtained from the bilirubin test cuvette. The amount of bilirubin in the sample is proportional to the difference between the initial and final absorbance measurements.



Total Cholesterol

The Abaxis Piccolo CHOL assay is an enzymatic end-point method that uses cholesterol esterase (CE) and cholesterol dehydrogenase (CHDH).¹⁴



CE hydrolyzes cholesterol esters to form cholesterol and fatty acids. The CHDH reaction converts cholesterol to cholest-4-en-3-one. The NADH is measured bichromatically at 340 nm and 405 nm. NADH production is directly proportional to the amount of cholesterol present. An assay-specific blank is also monitored to ensure no extraneous reactions interfere with the calculations of CHOL levels.

Gamma Glutamyl Transferase

The first quantitative methods developed to measure gamma glutamyl transferase (GGT) involved a second reaction to form an azo dye that combined with a chromophore.^{15,16} The change to L- γ -glutamyl-*p*-nitroanilide as the substrate in the reaction eliminated the dye-formation step.¹⁷ Due to the poor solubility and stability of L- γ -glutamyl-*p*-nitroanilide, this procedure was modified to use the substrate L- γ -glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide.¹⁸ The International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) recommended GGT method is based on the latter substrate, with glycylglycine as the other substrate.¹⁹

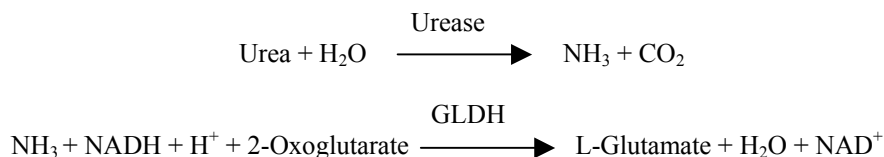
Abaxis has modified the IFCC method to react at 37°C. The addition of sample containing gamma glutamyl transferase to the substrates L- γ -glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide and glycylglycine (gly-gly) causes the formation of L- γ -glutamyl-glycylglycine (glu-gly-gly) and 3-carboxy-4-nitroaniline.



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

Urea Nitrogen

A coupled-enzymatic reaction is used by the Abaxis system. In this reaction, urease hydrolyzes urea into ammonia and carbon dioxide.²⁰ Upon combining ammonia with 2-oxoglutarate and reduced nicotinamide adenine dinucleotide (NADH), the enzyme glutamate dehydrogenase (GLDH) oxidizes NADH to NAD⁺.



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

4. Principle of Operation

See the VetScan Chemistry Analyzer Operator's Manual, for the Principles and Limitations of the Procedure.

5. Description of Reagents

Reagents

Each VetScan Mammalian Liver Profile reagent rotor contains dry test specific reagent beads. A dry sample blank reagent (comprised of buffer, surfactants, excipients and preservatives) is included in each reagent rotor for use in calculating concentrations of alanine aminotransferase, albumin, alkaline phosphatase, bile acids, total bilirubin, total cholesterol, gamma glutamyl transferase, and (blood) urea nitrogen. Dedicated sample blanks are included in the rotor to calculate the concentration of total bilirubin and total cholesterol levels. Each reagent rotor also contains a diluent consisting of surfactants and preservatives.

Warnings and Precautions

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

Instructions for Reagent Handling

Reagent rotors may be used directly from the refrigerator without warming. Open the sealed foil pouch and remove the rotor being careful not to touch the bar code ring located on the top of the reagent rotor. Use according to the instructions provided in the VetScan Operator's Manual. A rotor not used within 20 minutes of opening the pouch should be discarded. Rotors in opened pouches 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 Chemistry 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 Operator's Manual for complete information on using the analyzer.

7. Sample Collection and Preparation

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

- Specimens collected in a heparinized micropipette should be dispensed into the reagent rotor **immediately** following sample collection.
- Use only lithium heparin (green stopper) evacuated specimen collection tubes for whole blood or plasma samples. Use no-additive (red stopper) evacuated specimen collection tubes or serum separator tubes (red or red/black stopper) for serum samples.

- Whole blood samples obtained by venipuncture must be homogenous before transferring a sample to the reagent rotor. Gently invert the collection tubes several times just prior to sample transfer. Do **not** shake the collection tube. Shaking may cause hemolysis.
- The test must be started within 10 minutes of transferring the sample into the reagent rotor.
- Whole blood venipuncture samples should be run within 60 minutes of collection; if this is not possible, separate the sample and transfer it into a clean test tube.²¹ 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.
- **Total bilirubin** results may be adversely affected by photodegradation.²² Whole blood samples not run immediately should be stored in the dark for no longer than 60 minutes. If the sample can not be analyzed within that period, it should be separated into plasma or serum and stored in a capped sample tube in the dark at low temperatures.²³

Known Interfering Substances

- The only anticoagulant recommended for use with the VetScan Chemistry Analyzer is lithium heparin. Sodium heparin must not be used when collecting blood samples for use with this panel. Abaxis has performed studies demonstrating that EDTA, fluoride, oxalate, and any anticoagulant containing ammonium ions will interfere with at least one chemistry in the VetScan Mammalian Liver Profile reagent rotor.
- Physical interferents (hemolysis, icterus, and lipemia) may cause changes in the reported concentrations of some analytes. The sample indices are printed on the bottom of each result card to inform the operator about the levels of interferents present in each sample. The VetScan Chemistry Analyzer suppresses any results that are affected by >10% interference from hemolysis, lipemia, or icterus. “HEM”, “LIP”, “ICT” is printed on the result card in place of the result.

8. Procedure

Materials Provided

- One Mammalian Liver Profile Reagent Rotor PN: 500-1040 (a box of 10 rotors PN: 500-0040)

Materials Required but not Provided

- VetScan Chemistry Analyzer

Test Parameters

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

Test Procedure

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

Calibration

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

Quality Control

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

9. Results

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

10. Limitations of Procedure

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

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

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

11. Expected Values

These normal intervals are provided only as a guideline. The most definitive reference intervals are those established for your patient population. Test results should be interpreted in conjunction with the patient's clinical signs. To customize specific normal ranges in your VetScan Chemistry Analyzer for the "Other" bank, refer to your VetScan Operator's Manual under the Menu Key functions.

Table 1: Reference Intervals

	Canine	Feline	Equine
ALT	10 – 118 U/L (10 – 118 U/L)*	20 – 100 U/L (20 – 100 U/L)	5 – 20 U/L (5 – 20 U/L)
ALB	2.5 – 4.4 g/dL (25 – 44 g/L)	2.2 – 4.4 g/dL (22 – 44 g/L)	2.2 – 3.7 g/dL (22 – 37 g/L)
ALP	20 – 150 U/L (20 – 150 U/L)	10 – 90 U/L (10 – 90 U/L)	50 – 170 U/L (SI = 50 – 170 U/L)
BA²⁴	Fasting: 1 – 4 µmol/L (1 – 4 µmol/L) 2 Hrs Postprandial: 2 – 15 µmol/L (2 – 15 µmol/L) Cutoff: 25 µmol/L** (25 µmol/L)	Fasting: 1 – 3 µmol/L (1 – 3 µmol/L) 2 Hrs Postprandial: 7 – 9 µmol/L (7 – 9 µmol/L) Cutoff: 25 µmol/L** (25 µmol/L)	Fasting: NA Postprandial: NA Cutoff: 25 µmol/L** (25 µmol/L)
TBIL	0.1 – 0.6 mg/dL (2 – 10 µmol/L)	0.1 – 0.6 mg/dL (2 – 10 µmol/L)	0.5 – 2.3 mg/dL (9 – 39 µmol/L)
CHOL	125 – 270 mg/dL (3.2 – 7.0 mmol/L)	90 – 205 mg/dL (2.3 – 5.3 mmol/L)	50 – 140 mg/dL (1.3 – 3.6 mmol/L)
GGT	0 – 7 U/L (0 – 7 U/L)	0 – 2 U/L (0 – 2 U/L)	5 – 24 U/L (5 – 24 U/L)
BUN	7 – 25 mg/dL (2.5 – 8.9 mmol/L)	10 – 30 mg/dL (3.6 – 10.7 mmol/L)	7 – 25 mg/dL (2.5 – 8.9 mmol/L)

* (SI Units)

** Cutoffs for Bile Acids (BA) set for 100% specificity with a sensitivity of 74% for dogs and cats. See Ettinger & Feldman, reference 24, pages 1288-1290.

12. Performance Characteristics

Linearity

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

Table 2: VetScan Dynamic Ranges

Analyte	Dynamic Ranges Common Units	SI Units
ALT	5 – 2000 U/L	5 – 2000 U/L
ALB	1 – 6.5 g/dL	10 – 65 g/L
ALP	5 – 2400 U/L	5 – 2400 U/L
BA	1 – 140 µmol/L	1 – 140 µmol/L
TBIL	0.1 – 30 mg/dL	1.7 – 513 µmol/L
CHOL	20 – 520 mg/dL	0.52 – 13.5 mmol/L
GGT	5 – 3000 U/L	5 – 3000 U/L
BUN	2 – 180 mg/dL	0.7 – 64.3 mmol urea/L

Precision

Precision studies were conducted using the NCCLS EP5-A.²⁵ Guidelines with modifications based on NCCLS EP18-A²⁶ for unit-use devices. Results for within-run and total precision were determined by testing bi-level controls.

Table 3: Precision

Analyte	Sample Size	Within-Run	Total
Alanine Aminotransferase (U/L)			
	n=80		
<u>Control 1</u>			
Mean		21	21
SD		2.76	2.79
%CV		13.1	13.3
<u>Control 2</u>			
Mean		52	52
SD		2.70	3.25
%CV		5.2	6.3
Albumin (g/dL)			
	n=80		
<u>Control 1</u>			
Mean		3.9	3.9
SD		0.13	0.14
%CV		3.3	3.6
<u>Control 2</u>			
Mean		2.3	2.3
SD		0.09	0.10
%CV		3.9	4.3
Alkaline Phosphatase (U/L)			
	n=80		
<u>Control 1</u>			
Mean		39	39
SD		1.81	2.29
%CV		4.6	5.9
<u>Control 2</u>			
Mean		281	281
SD		4.08	8.75
%CV		1.5	3.1
Bile Acids (µmol/L)			
	n=40		
<u>Control 1</u>			
Mean		24	24
SD		0.33	0.33
%CV		1.4	1.4

Table 3: Precision (Continued)

Analyte	Sample Size	Within-Run	Total
<u>Control 2</u>			
Mean		75	75
SD		1.03	1.33
%CV		1.4	1.8
Total Bilirubin (mg/dL)	n=80		
<u>Control 1</u>			
Mean		0.8	0.8
SD		0.06	0.07
%CV		7.5	8.8
<u>Control 2</u>			
Mean		5.2	5.2
SD		0.09	0.15
%CV		1.7	2.9
Total Cholesterol (mg/dL)	n=80		
<u>Control 1</u>			
Mean		204	204
SD		6.64	6.84
%CV		3.3	3.4
<u>Control 2</u>			
Mean		275	275
SD		6.46	8.00
%CV		2.3	2.9
Gamma Glutamyl Transferase (U/L)	n=80		
<u>Control 1</u>			
Mean		25	25
SD		0.59	0.74
%CV		2.3	2.9
<u>Control 2</u>			
Mean		106	106
SD		1.52	2.29
%CV		1.4	2.2
Urea Nitrogen (mg/dL)	n=120		
<u>Control 1</u>			
Mean		19	19
SD		0.35	0.40
%CV		1.8	2.1
<u>Control 2</u>			
Mean		65	65
SD		1.06	1.18
%CV		1.6	1.8

Correlation

Field studies were conducted at a veterinary teaching hospital. Serum samples were analyzed by the VetScan Chemistry Analyzer and a comparative method. Representative correlation statistics are shown in Table 4.

Table 4: Correlation of the VetScan Chemistry Analyzer with Comparative Method(s)

		Correlation Coefficient	Slope	Intercept	Sample Range
Alanine Aminotransferase (U/L)	Canine	1.00	0.95	0	10 – 1549
	Feline	0.98	0.92	0	27 – 99
	Equine	0.97	0.94	6	11 – 30
Albumin (g/dL)	Canine	0.96	0.99	0.1	1.3 – 4.6
	Feline	0.75	1.02	0	2.1 – 4.8
	Equine	0.89	0.99	-0.6	1.2 – 3.2
Alkaline Phosphatase (U/L)	Canine	1.00	0.89	-5	15 – 1722
	Feline	0.97	0.81	1	6 – 54
	Equine	1.00	0.90	-4	119 – 1476
Bile Acids (µmol/L)	Canine	1.00	0.96	1	0 – 125
	Feline	1.00	1.09	-1	0 – 137
	Equine	*	*	*	*
Total Bilirubin (mg/dL)	Canine	0.87	0.84	0.1	0.1 – 3.2
	Feline	1.00	0.92	-0.3	0.4 – 15.0
	Equine	1.00	0.90	0.1	0.6 – 26.1
Total Cholesterol (mg/dL)	Canine	0.99	0.99	6	103 – 450
	Feline	0.99	1.06	-3	63 – 257
	Equine	*	*	*	*
Gamma Glutamyl Transferase (U/L)	Canine	1.00	0.96	2	5 – 65
	Feline	*	*	*	*
	Equine	0.99	1.11	0	5 – 317
Urea Nitrogen (mg/dL)	Canine	1.00	0.98	-2	4 – 117
	Feline	1.00	1.07	-5	14 – 165
	Equine	1.00	0.95	-1	3 – 64

* Not available

Note: Correlation studies for dogs included n = 22 – 180 samples; for cats included n = 21 – 55 samples; and for horses n = 7 – 101.

13. Bibliography

1. Wróbleski F, LaDue. Serum glutamic-pyruvic transaminase in cardiac and hepatic disease. Proc Soc Exp Biol Med 1956; 91: 569-71.
2. Bergmeyer HU, Horder M. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 3. IFCC method for alanine aminotransferase. J Clin Chem Clin Biochem 1980;18: 521-34.
3. Webster D, et al. An assessment on the suitability of bromocresol green for the determination of serum albumin. Clin Chim Acta 1974; 53: 101-8.
4. Bowers GN, et al. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 1. General considerations concerning the determination of the catalytic concentration of an enzyme in the blood serum or plasma of man. Clin Chim Acta 1979; 98: 163F-74F.
5. Ohmori Y. Uber die Phosphomomesterase. Enzymologia 1937; 4: 217-31.
6. Fujita H. Uber die Mikrobestimmung der Blutphosphatase. J Biochem, Japan 1937; 30: 69-87.
7. Petittler C, et al. Mechanism of action of Mg²⁺ and Zn²⁺ on rat placental alkaline phosphatase. I. Studies on the soluble Zn²⁺ and Mg²⁺ alkaline phosphatase. Can J Biochem 1975; 53: 1089-1100.
8. Tietz NW, et al. A reference method for measurement of alkaline phosphatase activity in human serum. Clin Chem 1983; 29: 751-61.
9. Malloy HT, Evelyn KA. The determination of bilirubin with the photoelectric colorimeter. J Biol Chem 1937; 119: 481-90.
10. Meites S. Bilirubin, direct reacting and total, modified Mally-Evelyn method. In: Selected Methods of Clinical Chemistry. Faulkner WR, Meites S, eds. Washington, DC: American Association for Clinical Chemistry. 1982: 119-24.
11. Murao S, Tanaka N. A new enzyme “bilirubin oxidase” produced by *Myrothecium verrucaria* MT-1. Agric Biol Chem 1981; 45: 2383-4.

12. Osaki S, Anderson S. Enzymatic determination of bilirubin. *Clin Chem* 1982; 30: 971 (Abstract).
13. Perry B, et al. Measurement of total bilirubin by use of bilirubin oxidase. *Clin Chem* 1986; 32: 329-32.
14. Kayamori, Y, et al. Endpoint colorimetric method for assaying total cholesterol in serum with cholesterol dehydrogenase. *Clin Chem* 1999; 45: 2158-2163.
15. Ball EG, Revel JP, Cooper O. The quantitative measurement of γ -glutamyl transpeptidase activity. *J Biol Chem* 1956; 221: 895-908.
16. Goldbarg JA, et al. The colorimetric determination of γ -glutamyl transpeptidase with a synthetic substrate. *Arch Biochem Biophys* 1960; 91: 61-70.
17. Orłowski M, Meister A. 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.
18. 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.
19. 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.
20. Sampson, 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.
21. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Procedures for handling and processing of blood specimens; approved guideline-2nd ed. NCCLS Document H18-A2. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
22. Sherwin JE and Obernolte R. Bilirubin. *In: Clinical Chemistry: Theory, Analysis and Correlation*, 2nd ed. Kaplan LA, Pesce AJ, eds. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 1009-1015.
23. Henry RJ, Canon DC, Winkelman. *Clinical Chemistry Principles and Technics*, 2nd ed. New York: Harper and Row; 1974; 417-21 & 127-8.
24. Leveille-Webster CR. Chapter 141. Laboratory diagnosis of hepatobiliary disease. *In: Textbook of Veterinary Internal Medicine*, Vol 2, 5th ed. Ettinger SJ, Feldman EC, eds. St. Louis: W.B. Saunders Company. 2000: 1288-1290.
25. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices; approved guideline. NCCLS Document EP5-A. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
26. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Quality management for unit-use testing; approved guideline. NCCLS Document EP18-A. Wayne, PA: NCCLS, 2002.

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

Mai 2006

Art.-Nr.: 500-7128, Rev. B

© 2005, Abaxis, Inc., Union City, CA 94587 USA

1. Verwendungszweck

Die VetScan[®]-Säugetierleberprofil-Reagenzdisk für das VetScan-Analysesystem verwendet Trocken- und Flüssigreagenzien für die veterinärmedizinische quantitative *In-vitro*-Bestimmung von Alanin-Aminotransferase (ALT), Albumin (ALB), alkalischer Phosphatase (ALP), Gallensäuren (BA), Gesamtbilirubin (TBIL), Gesamtcholesterin (CHOL) Gamma-Glutamyl-Transferase (GGT) und Harnstoffstickstoff (BUN) in heparinisiertem Vollblut, heparinisiertem Plasma oder Serum.

2. Zusammenfassung und Erläuterung der Tests

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

Alanin-Aminotransferase (ALT)	Leberkrankungen einschließlich Virushepatitis und Zirrhose; Herzkrankheiten.
Albumin (ALB)	Leber- und Nierenerkrankungen.
Alkalische Phosphatase (ALP)	Leber-, Knochen-, Nebenschilddrüsen- und Darmerkrankungen.
Gallensäuren (BA)	Leber-/Gallenerkrankungen; portokavale Gefäßanomalie (PSVA); extrahepatischer Shunt.
Gesamtbilirubin (TBIL)	Leberfunktionsstörungen.
Gesamtcholesterin (CHOL)	Nachweis von Hyperlipidämie; Screening-Tests auf Hypothyroidismus und Hyperkortizismus.
Gamma-Glutamyl-Transferase (GGT)	Lebererkrankungen, primäre und sekundäre Lebertumoren
Harnstoffstickstoff (BUN)	Leber- und Nierenerkrankungen.

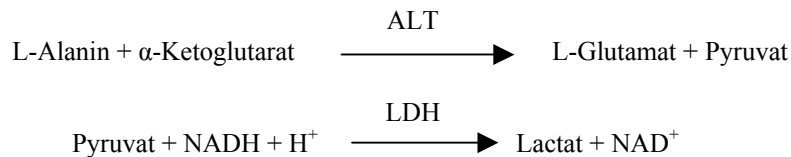
Wie bei allen diagnostischen Testverfahren sind vor der abschließenden Diagnose alle anderen Testverfahren, einschließlich des klinischen Status des Patienten, in Betracht zu ziehen.

3. Verfahrensprinzip

Alanin-Aminotransferase

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

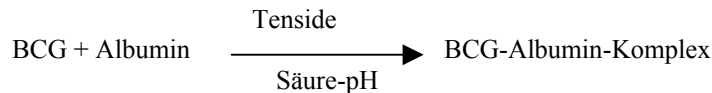
Bei dieser Reaktion katalysiert ALT den Transfer einer Aminogruppe von L-Alanin zu α -Ketoglutarat und damit die Bildung von L-Glutamat und Pyruvat. Lactat-Dehydrogenase katalysiert die Umwandlung von Pyruvat zu Lactat. Gleichzeitig wird NADH wie im folgenden Reaktionsschema dargestellt zu NAD⁺ oxidiert.



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

Albumin

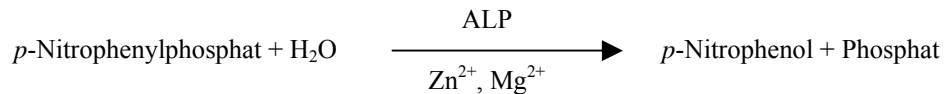
Farbstoffbindungstechniken sind die am häufigsten gebrauchten Methoden zur Bestimmung von Albumin. Unter den Farbstoffbindungsmethoden ist Bromkresolgrün (BCG) die am häufigsten eingesetzte.³



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.

Alkalische Phosphatase

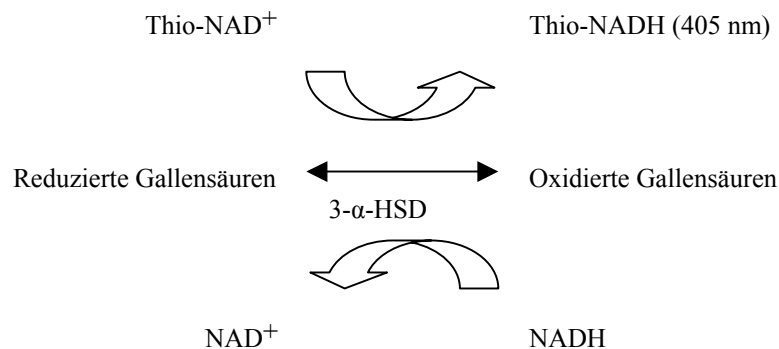
Das VetScan-Verfahren ist eine Abwandlung der von der American Association for Clinical Chemistry (AACC) und der IFCC verwendeten Methoden.⁴ Alkalische Phosphatase hydrolysiert *p*-NPP in einem Metallionenpuffer und bildet *p*-Nitrophenol und Phosphat. Die Verwendung von *p*-Nitrophenylphosphat (*p*-NPP) erhöht die Reaktionsgeschwindigkeit.^{5,6} Die Zuverlässigkeit dieses Verfahrens verbessert sich durch die Verwendung eines Metallionenpuffers zur Aufrechterhaltung der Konzentration der Magnesium- und Zinkionen in der Reaktion erheblich.⁷ Die Referenzmethode der AACC verwendet *p*-NPP als Substrat und als Metallionenpuffer.⁸



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

Gallensäuren

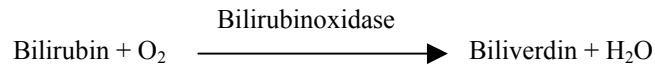
Bei Vorliegen des Thio-Derivats von Nicotinamid-adenin-dinucleotid (Thio-NAD⁺) bewirkt das Enzym 3- α -Hydroxysteroid-Dehydrogenase (3- α -HSD) eine reversible Oxidation von Gallensäuren zu oxidierten Gallensäuren (3- α -keto-Formen), wobei gleichzeitig Thio-NAD⁺ in seine reduzierte Form (Thio-NADH) umgewandelt wird. Bei Vorliegen von überschüssigem NADH werden die oxidierten Gallensäuren in einem Reaktionszyklus wieder in ihre reduzierte Form umgewandelt. NADH wird in NAD⁺ umgewandelt. Beim Abaxis-System werden Thio-NAD⁺, NADH und 3- α -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-NADH), die sich proportional zur Gallensäuren-Konzentration der Probe verhält. Die Geschwindigkeit wird bichromatisch bei 405 nm und 500 nm bestimmt.



Gesamtbilirubin

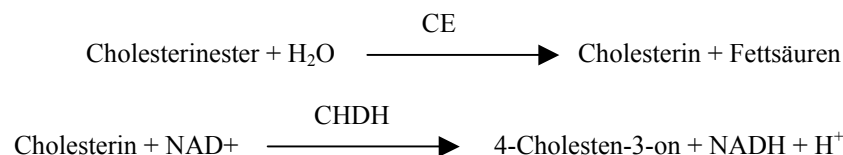
Zur Bestimmung der Gesamtbilirubin-Spiegel wurden bisher meistens Tests eingesetzt, die diazotierte Sulfanilsäure verwendeten.^{9,10} Eine neuere und spezifischere Methode verwendet das Enzym Bilirubinoxidase.¹¹⁻¹³ Neben dem Vorteil einer spezifischeren Gesamtbilirubin-Testmethode wird am Analysesystem auch der fotochemische Abbau des Analyten minimiert, da die Probe sofort nach der Entnahme getestet werden kann.

In dem enzymbasierten Verfahren wird Bilirubin durch Bilirubinoxidase zu Biliverdin oxidiert. Bilirubin wird als Extinktionsdifferenz zwischen 467 nm und 550 nm quantitativ bestimmt. Die anfängliche Extinktion dieser Endpunktreaktion wird aus der Bilirubin-Blindprobenküvette, die endgültige Extinktion aus der Bilirubin-Testküvette ermittelt. Die Bilirubinmenge in der Probe ist proportional zur Differenz der anfänglichen und endgültigen Extinktionsmesswerte.



Gesamtcholesterin

Der Piccolo CHOL-Assay von Abaxis ist eine enzymatische Endpunktmethod mit Cholesterin-Esterase (CE) und Cholesterin-Dehydrogenase (CHDH).¹⁴



CE hydrolysiert die Cholesterinester zu Cholesterin und Fettsäuren. Durch die CHDH-Reaktion wird Cholesterin in 4-Cholesten-3-on umgewandelt. Die NADH-Messgröße wird bichromatisch bei 340 nm und 405 nm bestimmt. Die NADH-Produktion ist direkt proportional zur Menge des vorhandenen Cholesterins. Außerdem wird eine testspezifische Blindprobe überwacht, um sicherzustellen, dass keine anderweitigen Reaktionen die Berechnung der CHOL-Spiegel stören.

Gamma-Glutamyl-Transferase

Die ersten zur Bestimmung von Gamma-Glutamyl-Transferase (GGT) entwickelten quantitativen Methoden umfassten eine zweite Reaktion zur Bildung eines mit einem Chromphor kombinierten Azofarbstoffs.^{15,16} Der Wechsel zu L-γ-Glutamyl-*p*-nitroanilid als Substrat bei der Reaktion machte den Farbstoffbildungsschritt überflüssig.¹⁷ 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.¹⁸ Die von der International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) empfohlene GGT-Methode basiert auf letzterem Substrat, wobei Glycylglycin das andere Substrat darstellt.¹⁹

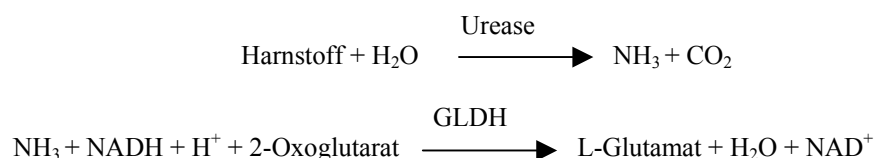
Abaxis hat die IFCC-Methode so abgewandelt, dass die Reaktion bei 37 °C erfolgt. Die Zugabe einer Probe mit Gamma-Glutamyl-Transferase-Gehalt zu den Substraten L-γ-Glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilid und Glycylglycin (Gly-gly) führt zur Bildung von L-γ-Glutamyl-glycylglycin (Glu-gly-gly) und 3-Carboxy-4-nitroanilin.



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.

Harnstoffstickstoff

Das Abaxis-System verwendet eine gekoppelte Enzymreaktion. Bei dieser Reaktion wird Harnstoff durch Urease zu Ammoniak und Kohlendioxid hydrolysiert.²⁰ Nach der Kopplung von Ammoniak mit 2-Oxoglutarat und reduziertem Nicotinamid-adenin-dinucleotid (NADH) oxidiert das Enzym Glutamat-Dehydrogenase (GLDH) NADH zu NAD⁺.



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

4. Funktionsprinzip

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

5. Beschreibung der Reagenzien

Reagenzien

Jede VetScan-Säugetierleberprofil-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 Alanin-Aminotransferase, Albumin, alkalischer Phosphatase, Gallensäuren, Gesamtbilirubin, Gesamtcholesterin, Gamma-Glutamyl-Transferase und Harnstoffstickstoff. Die Disk enthält spezifische Blindproben für die Berechnung der Gesamtbilirubin- und Gesamtcholesterin-Spiegel. Jede Reagenzdisk enthält außerdem ein aus Tensiden und Konservierungsmitteln bestehendes Verdünnungsmittel.

Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

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

Anweisungen zum Umgang mit Reagenzien

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

Lagerung

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

Anzeichen für instabile oder zerfallene Reagenzdisks

- Alle in der Reagenzdisk enthaltenen Reagenzien bleiben bei den oben beschriebenen Lagerbedingungen bis zu dem auf dem 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.

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 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 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.²¹ 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.
- **Gesamtbilirubin**-Ergebnisse können durch fotochemischen Abbau negativ beeinflusst werden.²² 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.²³

Bekannte Störsubstanzen

- Das einzige zur Verwendung mit dem VetScan-Vollblut-Analysesystem empfohlene Antikoagulans ist Lithium-Heparin. Bei der Entnahme von Blutproben für den Gebrauch mit diesem Profil darf kein Natriumheparin verwendet werden. Abaxis hat in Studien demonstriert, dass EDTA, Fluorid, Oxalat und Ammoniumionen enthaltende Antikoagulantien mindestens eine der Methoden der VetScan-Säugetierleberprofil-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.

8. Verfahren

Lieferumfang

- Eine Säugetierleberprofil-Reagenzdisk, Art.-Nr.: 500-1040 (ein Karton mit 10 Disks, Art.-Nr.: 500-0040)

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-Säugetierleberprofil-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

	Hunde	Katzen	Pferde
ALT	10–118 E/l (10–118 E/l)*	20–100 E/l (20–100 E/l)	5–20 E/l (5–20 E/l)
ALB	2,5–4,4 g/dl (25–44 g/l)	2,2–4,4 g/dl (22–44 g/l)	2,2–3,7 g/dl (22–37 g/l)
ALP	20–150 E/l (20–150 E/l)	10–90 E/l (10–90 E/l)	50–170 E/l (SI = 50–170 E/l)
BA²⁴	Nüchtern: 1–4 µmol/l (1–4 µmol/l) 2 Std. postprandial: 2–15 µmol/l (2–15 µmol/l) Schwellenwert: 25 µmol/l** (25 µmol/l)	Nüchtern: 1–3 µmol/l (1–3 µmol/l) 2 Std. postprandial: 7–9 µmol/l (7–9 µmol/l) Schwellenwert: 25 µmol/l** (25 µmol/l)	Nüchtern: N/V Postprandial: N/V Schwellenwert: 25 µmol/l** (25 µmol/l)
TBIL	0,1–0,6 mg/dl (2–10 µmol/l)	0,1–0,6 mg/dl (2–10 µmol/l)	0,5–2,3 mg/dl (9–39 µmol/l)
CHOL	125–270 mg/dl (3,2–7,0 mmol/l)	90–205 mg/dl (2,3–5,3 mmol/l)	50–140 mg/dl (1,3–3,6 mmol/l)
GGT	0–7 E/l (0–7 E/l)	0–2 E/l (0–2 E/l)	5–24 E/l (5–24 E/l)
BUN	7–25 mg/dl (2,5–8,9 mmol/l)	10–30 mg/dl (3,6–10,7 mmol/l)	7–25 mg/dl (2,5–8,9 mmol/l)

* (SI-Einheiten)

** Schwellenwerte für Gallensäuren (BA), festgelegt auf 100 % Spezifität bei einer Empfindlichkeit von 74 % für Hunde und Katzen. Siehe Ettinger u. Feldman, Literaturverzeichnis Nr. 24, Seiten 1288–1290.

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
ALT	5–2000 E/l	5–2000 E/l
ALB	1–6,5 g/dl	10–65 g/l
ALP	5–2400 E/l	5–2400 E/l
BA	1–140 µmol/l	1–140 µmol/l
TBIL	0,1–30 mg/dl	1,7–513 µmol/l
CHOL	20–520 mg/dl	0,52–13,5 mmol/l
GGT	5–3000 E/l	5–3000 E/l
BUN	2–180 mg/dl	0,7–64,3 mmol Harnstoff/l

Präzision

Es wurden Präzisionsstudien durchgeführt, die den NCCLS-Richtlinien EP5-A²⁵ entsprachen (mit Änderungen gemäß NCCLS EP18-A²⁶ 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
Alanin-Aminotransferase (E/l)			
	n=80		
<u>Kontrolle 1</u>			
	Mittelwert	21	21
	SA	2,76	2,79
	% VK	13,1	13,3
<u>Kontrolle 2</u>			
	Mittelwert	52	52
	SA	2,70	3,25
	% VK	5,2	6,3
Albumin (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
Alkalische Phosphatase (E/l)			
	n=80		
<u>Kontrolle 1</u>			
	Mittelwert	39	39
	SA	1,81	2,29
	% VK	4,6	5,9
<u>Kontrolle 2</u>			
	Mittelwert	281	281
	SA	4,08	8,75
	% VK	1,5	3,1
Gallensäuren (µmol/l)			
	n=40		
<u>Kontrolle 1</u>			
	Mittelwert	24	24
	SA	0,33	0,33
	% VK	1,4	1,4
<u>Kontrolle 2</u>			
	Mittelwert	75	75
	SA	1,03	1,33
	% VK	1,4	1,8
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

Tabelle 3: Präzision (Fortsetzung)

Analyt	Probenumfang	Innerhalb eines Laufs	Gesamt
Gesamtcholesterin (mg/dl)	n=80		
<u>Kontrolle 1</u>			
Mittelwert		204	204
SA		6,64	6,84
% VK		3,3	3,4
<u>Kontrolle 2</u>			
Mittelwert		275	275
SA		6,46	8,00
% VK		2,3	2,9
Gamma-Glutamyl-Transferase (E/l)	n=80		
<u>Kontrolle 1</u>			
Mittelwert		25	25
SA		0,59	0,74
% VK		2,3	2,9
<u>Kontrolle 2</u>			
Mittelwert		106	106
SA		1,52	2,29
% VK		1,4	2,2
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

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)

		Korrelationskoeffizient	Steigung	Schnittpunkt	Probenbereich
Alanin-Aminotransferase (E/l)	Hunde	1,00	0,95	0	10–1549
	Katzen	0,98	0,92	0	27–99
	Pferde	0,97	0,94	6	11–30
Albumin (g/dl)	Hunde	0,96	0,99	0,1	1,3–4,6
	Katzen	0,75	1,02	0	2,1–4,8
	Pferde	0,89	0,99	-0,6	1,2–3,2
Alkalische Phosphatase (E/l)	Hunde	1,00	0,89	-5	15–1722
	Katzen	0,97	0,81	1	6–54
	Pferde	1,00	0,90	-4	119–1476
Gallensäuren (µmol/l)	Hunde	1,00	0,96	1	0–125
	Katzen	1,00	1,09	-1	0–137
	Pferde	*	*	*	*
Gesamtbilirubin (mg/dl)	Hunde	0,87	0,84	0,1	0,1–3,2
	Katzen	1,00	0,92	-0,3	0,4–15,0
	Pferde	1,00	0,90	0,1	0,6–26,1
Gesamtcholesterin (mg/dl)	Hunde	0,99	0,99	6	103–450
	Katzen	0,99	1,06	-3	63–257
	Pferde	*	*	*	*
Gamma-Glutamyl-Transferase (E/l)	Hunde	1,00	0,96	2	5–65
	Katzen	*	*	*	*
	Pferde	0,99	1,11	0	5–317
Harnstoffstickstoff (mg/dl)	Hunde	1,00	0,98	-2	4–117
	Katzen	1,00	1,07	-5	14–165
	Pferde	1,00	0,95	-1	3–64

* Nicht verfügbar

Hinweis: Korrelationsstudien für Hunde umfassten n = 22–180 Proben, Korrelationsstudien für Katzen umfassten n = 21–55

Proben und Korrelationsstudien für Pferde umfassten n = 7–101 Proben.

13. Literaturverzeichnis

1. Wróbleski F, LaDue. Serum glutamic-pyruvic transaminase in cardiac and hepatic disease. Proc Soc Exp Biol Med 1956; 91: 569-71.
2. Bergmeyer HU, Horder M. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 3. IFCC method for alanine aminotransferase. J Clin Chem Clin Biochem 1980;18: 521-34.
3. Webster D, et al. An assessment on the suitability of bromocresol green for the determination of serum albumin. Clin Chim Acta 1974; 53: 101-8.
4. Bowers GN, et al. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 1. General considerations concerning the determination of the catalytic concentration of an enzyme in the blood serum or plasma of man. Clin Chim Acta 1979; 98: 163F-74F.
5. Ohmori Y. Über die Phosphomomesterase. Enzymologia 1937; 4: 217-31.
6. Fujita H. Über die Mikrobestimmung der Blutphosphatase. J Biochem, Japan 1937; 30: 69-87.
7. Petittler C, et al. Mechanism of action of Mg²⁺ and Zn²⁺ on rat placental alkaline phosphatase. I. Studies on the soluble Zn²⁺ and Mg²⁺ alkaline phosphatase. Can J Biochem 1975; 53: 1089-1100.
8. Tietz NW, et al. A reference method for measurement of alkaline phosphatase activity in human serum. Clin Chem 1983; 29: 751-61.
9. Malloy HT, Evelyn KA. The determination of bilirubin with the photoelectric colorimeter. J Biol Chem 1937; 119: 481-90.
10. Meites S. Bilirubin, directing reacting and total, modified Mally-Evelyn method. In: Selected Methods of Clinical Chemistry. Faulkner WR, Meites S, eds. Washington, DC: American Association for Clinical Chemistry. 1982: 119-24.

11. Murao S, Tanaka N. A new enzyme "bilirubin oxidase" produced by *Myrothecium verrucaria* MT-1. *Agric Biol Chem* 1981; 45: 2383-4.
12. Osaki S, Anderson S. Enzymatic determination of bilirubin. *Clin Chem* 1982; 30: 971 (Abstract).
13. Perry B, et al. Measurement of total bilirubin by use of bilirubin oxidase. *Clin Chem* 1986; 32: 329-32.
14. Kayamori, Y, et al. Endpoint colorimetric method for assaying total cholesterol in serum with cholesterol dehydrogenase. *Clin Chem* 1999; 45: 2158-2163.
15. Ball EG, Revel JP, Cooper O. The quantitative measurement of γ -glutamyl transpeptidase activity. *J Biol Chem* 1956; 221: 895-908.
16. Goldbarg JA, et al. The colorimetric determination of γ -glutamyl transpeptidase with a synthetic substrate. *Arch Biochem Biophys* 1960; 91: 61-70.
17. Orłowski M, Meister A. 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.
18. 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.
19. 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.
20. Sampson, 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.
21. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Procedures for handling and processing of blood specimens; approved guideline-2nd ed. NCCLS Document H18-A2. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
22. Sherwin JE and Obermolte R. Bilirubin. *In: Clinical Chemistry: Theory, Analysis and Correlation*, 2nd ed. Kaplan LA, Pesce AJ, eds. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 1009-1015.
23. Henry RJ, Canon DC, Winkelman. *Clinical Chemistry Principles and Technics*, 2nd ed. New York: Harper and Row; 1974; 417-21 & 127-8.
24. Leveille-Webster CR. Chapter 141. Laboratory diagnosis of hepatobiliary disease. *In: Textbook of Veterinary Internal Medicine*, Vol 2, 5th ed. Ettinger SJ, Feldman EC, eds. St. Louis: W.B. Saunders Company. 2000: 1288-1290.
25. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices; approved guideline. NCCLS Document EP5-A. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
26. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Quality management for unit-use testing; approved guideline. NCCLS Document EP18-A. Wayne, PA: NCCLS, 2002.

Pour usage vétérinaire seulement
Service à la clientèle et technique 1-800-822-2947

Mai 2006
Réf. : 500-7128, Rév : B
© 2005 Abaxis, Inc., Union City, CA 94587 États-Unis

1. Usage prévu

Le rotor de réactif Profil foie mammifère VetScan® utilisé avec l'analyseur chimique VetScan utilise des réactifs secs et liquides afin de fournir au vétérinaire des déterminations quantitatives *in vitro* d'alanine aminotransférase (ALT), d'albumine (ALB), de phosphatase alcaline (ALP), d'acides biliaires (BA), de bilirubine totale (TBIL), de cholestérol total (CHOL), de gamma-glutamyl-transférase (GGT) et d'azote uréique (du sang) (BUN) dans du sang total hépariné, du sérum ou du plasma hépariné.

2. Résumé et explication des tests

Le rotor de réactif Profil foie mammifère VetScan et l'analyseur chimique VetScan sont dotés d'un système de diagnostic *in vitro* qui aide le vétérinaire à diagnostiquer les troubles suivants :

Aminotransférase alanine (ALT)	Pathologies hépatiques, notamment hépatite virale et cirrhose ; maladies cardiaques
Albumine (ALB)	Pathologie hépatique et néphropathie.
Phosphatase alcaline (ALP)	Maladies hépatiques, osseuses, parathyroïdiennes et intestinales
Acides biliaires (BA)	Pathologie hépatobiliaire, anomalie vasculaire portosystémique (AVPS), effet shunt extrahépatique.
Bilirubine totale (TBIL)	Troubles hépatiques.
Cholestérol total (CHOL)	Détection d'hyperlipidémie, test de dépistage de l'hypothyroïdie et l'hyperadrénocorticisme.
Gamma-glutamyl-transférase (GGT)	Maladie du foie, tumeurs hépatiques primaire et secondaire
Azote uréique du sang (BUN)	Pathologies hépatiques et insuffisances rénales

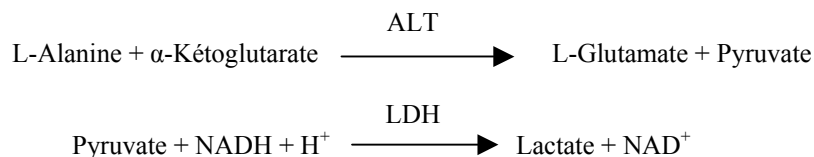
Comme c'est le cas pour toute procédure de test de diagnostic, toutes les autres procédures de test, y compris l'état clinique du patient, doivent être prises en considération avant d'établir un diagnostic définitif.

3. Principes de la procédure

Aminotransférase alanine

La méthode développée pour l'utiliser sur l'analyseur chimique VetScan est une modification de la procédure de Wróblewski et LaDue recommandée par la Fédération internationale de chimie clinique (FICC).^{1,2}

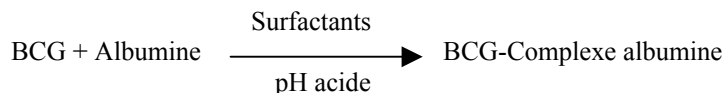
Dans cette réaction, l'ALT catalyse le transfert d'un groupe amino de la L-alanine vers α -kétoglutarate pour former le L-glutamate et le pyruvate. Le lactate déshydrogénase catalyse la conversion du pyruvate en lactate. Simultanément, la NADH est oxydée en NAD⁺, comme illustré dans la formule suivante.



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

Albumine

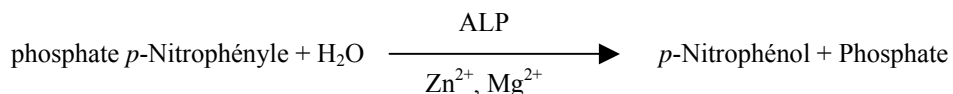
Les techniques de fixation de colorant sont les méthodes les plus utilisées pour mesurer l'albumine. Le vert de bromocrésol (BCG) est la méthode de fixation de colorant la plus utilisée.³



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

Phosphatase alcaline

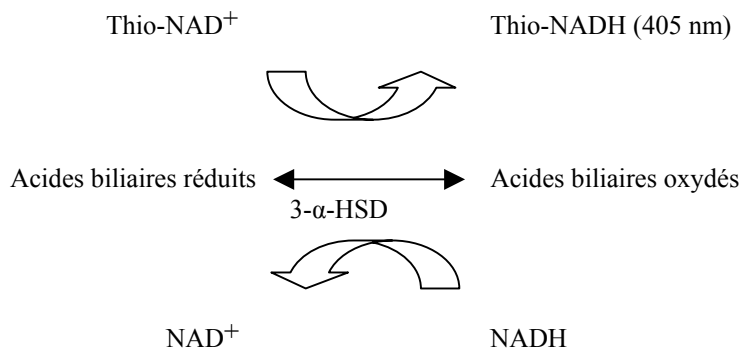
La procédure VetScan s'inspire des méthodes de l'AACC et de la FICC.⁴ La phosphatase alcaline hydrolyse le *p*-NPP dans un tampon à ions métalliques et forme du *p*-nitrophénol et du phosphate. L'utilisation de phosphate *p*-nitrophényl (*p*-NPP) augmente la vitesse de la réaction.^{5,6} La fiabilité de cette technique a été largement améliorée par l'utilisation d'un tampon à ions métalliques afin de maintenir la concentration des ions de magnésium et de zinc dans la réaction.⁷ La méthode de référence utilisée par l'American Association for Clinical Chemistry (AACC) utilise la *p*-NPP en tant que substrat et tampon à ions métalliques.⁸



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

Acides biliaires

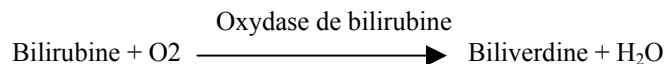
En présence du thio-dérivé de la nicotinamide adénine dinucléotide (Thio-NAD⁺), l'enzyme 3- α -hydroxystéroïde déshydrogénase (3- α -HSD) réoxyde les acides biliaires en acides biliaires oxydés (formes 3- α -cétone) avec la conversion concomitante de la thio-NAD⁺ à sa forme réduite (Thio-NADH). Dans 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 NAD⁺. Dans le système Abaxis, ce sont des billes de réactif sec qui fournissent les Thio-NAD⁺, NADH et 3- α -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.



Bilirubine totale

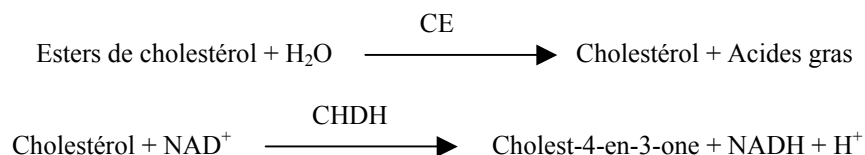
Typiquement, les niveaux de bilirubine totale ont été mesurés par des tests utilisant l'acide sulfanilique diazoté.^{9,10} Une nouvelle méthode plus spécifique, qui utilise l'enzyme bilirubine oxydase, a été développée.¹¹⁻¹³ En plus de l'utilisation du test plus spécifique de la bilirubine totale, la photodégradation de l'analyte est minimisée dans l'analyseur parce que l'échantillon peut être testé immédiatement après avoir été prélevé.

Dans la procédure enzymatique, la bilirubine est oxydée par l'oxydase de bilirubine en biliverdine. La bilirubine est quantifiée comme étant la différence d'absorbance entre 467 nm et 550 nm. L'absorbance initiale de cette réaction en point final est déterminée à partir de la cuvette de blanc de bilirubine et l'absorbance finale est obtenue à partir de la cuvette d'essai de bilirubine. La quantité de bilirubine dans l'échantillon est proportionnelle à la différence entre les mesures de l'absorbance initiale et finale.



Cholestérol total

Le dosage CHOL Piccolo d'Abaxis est une méthode enzymatique au point final qui utilise la cholestérol estérase (CE) et la cholestérol déshydrogénase (CHDH).¹⁴



La CE hydrolyse les esters de cholestérol afin de former du cholestérol et des acides gras. La réaction CHDH convertit le cholestérol en cholest-4-en-3-one. La NADH est mesurée de façon biochromatique à 340 nm et 405 nm. La production de NADH est directement proportionnelle à la quantité de cholestérol présente. Un blanc spécifique au dosage est également contrôlé afin d'assurer qu'aucune réaction extérieure n'intervienne dans les calculs des niveaux de CHOL.

Gamma-glutamyl-transférase

Les premières méthodes quantitatives développées pour mesurer la gamma-glutamyl-transférase (GGT) utilisaient une deuxième réaction dans le but de former un colorant azoïque qui se combinait avec un chromophore.^{15,16} Le fait d'utiliser le substrat L-γ-glutamyl-*p*-nitroanilide dans la réaction éliminait l'étape de formation du colorant.¹⁷ Vu les faibles solubilité et stabilité du L-γ-glutamyl-*p*-nitroanilide, cette procédure a été modifiée afin d'utiliser le substrat -γ-glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide.¹⁸ La méthode GGT, recommandée par la Fédération internationale de chimie clinique (FICC), se base sur ce dernier substrat, l'autre substrat étant la glycylglycine.¹⁹

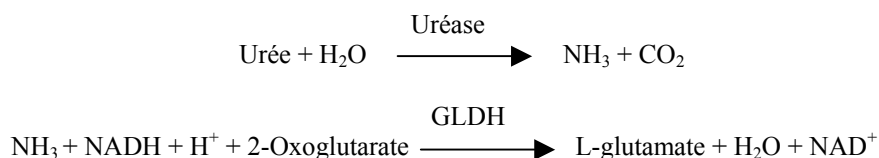
Abaxis a modifié la méthode de la FICC pour réagir à 37° C. L'ajout d'un échantillon comprenant de la gamma-glutamyl-transférase aux substrats L-γ-glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide et glycylglycine (gly-gly) entraîne la formation L-γ-glutamyl-glycylglycine (glu-gly-gly) et de 3-carboxy-4-nitroaniline.



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

Azote uréique

Le système Abaxis utilise une réaction enzymatique couplée. Dans cette réaction, l'uréase hydrolyse l'urée dans de l'ammoniaque et du dioxyde de carbone.²⁰ Lors de la combinaison d'ammoniaque avec du 2-oxoglutarate et du nicotinamide adénine dinucléotide réduit (NADH), l'enzyme glutamate déshydrogénase (GLDH) oxyde le NADH en NAD⁺.



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

4. Principe d'exécution

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

5. Description des réactifs

Réactifs

Chaque rotor de réactif Profil foie mammifère VetScan contient des billes de réactifs spécifiques aux essais à sec. Un réactif à blanc d'échantillon sec (composés de tampon, surfactants, excipients et conservateurs) est inclus dans chaque rotor de réactif pour être utilisé dans le calcul des concentrations d'alanine aminotransférase, d'albumine, de phosphatase alcaline, d'acides biliaires, de biliburine totale, de cholestérol total, de gamma-glutamyl-transférase et d'azote uréique (du sang). Des échantillons à blanc dédiés sont inclus dans le rotor pour la concentration des niveaux de biliburine totale et cholestérol total. Chaque rotor de réactif contient également un diluant composé de surfactants et d'agents conservateurs.

Avertissements et précautions

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

Manipulation des réactifs

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

Conservation

Conserver les rotors de réactif dans 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 réaction chimique 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 quantité minimale requise pour un échantillon est de ~100 µl de sang total hépariné, de plasma hépariné, de sérum ou de témoin. La chambre à échantillon du rotor de réactif peut contenir jusqu'à 120 µL d'échantillon.

- Les échantillons prélevés dans une micropipette héparinée doivent être distribués dans le rotor de réactif **immédiatement** après leur prélèvement.

- N'utiliser que des tubes de prélèvement sous vide à héparine de lithium (bouchon vert) pour les échantillons de sang entier ou de plasma. Utiliser des tubes de prélèvement sous vide (bouchon rouge) sans adjuvants ou des tubes de séparation de sérum (bouchon rouge ou rouge et noir) pour les échantillons de sérum.
- Les échantillons de sang entier obtenus par ponction veineuse doivent être homogènes avant de transférer un échantillon au rotor de réactif. Retourner doucement le tube de prélèvement à plusieurs reprises juste avant de transférer les échantillons. **Ne pas** agiter le tube de prélèvement. L'utilisateur évitera ainsi tout risque d'hémolyse.
- Le test doit être commencé dans les 10 minutes suivant le transfert de l'échantillon dans le rotor de réactif.
- Les échantillons de sang total prélevés par ponction veineuse devraient 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.²¹ 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.
- La photodégradation peut avoir un effet négatif sur les résultats de **bilirubine totale**.²² Tout échantillon de sang total qui n'est pas traité immédiatement doit être conservé dans l'obscurité pendant 60 minutes au maximum. Si l'échantillon ne peut être analysé dans ce délai, il doit être séparé en plasma ou sérum et conservé dans un tube à essai muni d'un bouchon dans l'obscurité et à des températures peu élevées.²³

Substances interférentes connues

- L'héparine de lithium est l'unique anticoagulant dont l'utilisation est recommandée avec l'analyseur de réaction chimique VetScan. Ne pas utiliser l'héparine de sodium lors de la collecte des échantillons de sang qui seront utilisés avec ce bilan. Abaxis a mené des études démontrant que l'EDTA, le fluorure, l'oxalate et tout anticoagulant contenant des ions d'ammonium interfèrent avec au moins une solution chimique contenue dans le rotor de réactif Profil foie mammifère 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 réaction chimique VetScan supprime tout résultat affecté par une interférence >10 % 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.

8. Procédure

Matériel fourni

- Un rotor de réactif pour profil hépatique pour mammifères, réf. no : 500-1040 (Réf. d'une boîte de 10 rotors : 500-0040)

Matériel nécessaire mais non fourni

- Analyseur de réaction chimique VetScan

Paramètres de test

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

Procédure de test

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

Étalonnage

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

Contrôle qualité

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

9. Résultats

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

10. Limitations de la procédure

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

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

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

11. Valeurs attendues

Ces intervalles sont indiqués à titre d'information seulement. Les plages de référence définitives sont celles définies pour la population des patients. Les résultats des tests doivent être interprétés conjointement avec les signes cliniques du patient. Pour personnaliser des plages normales spécifiques dans l'analyseur de réaction chimique VetScan pour la banque « Autre », se reporter à la section décrivant les touches du menu du manuel de l'utilisateur VetScan.

Tableau 1 : Plages de référence

	Chien	Félin	Équin
ALT	10 – 118 U/L (10 – 118 U/L)*	20 – 100 U/L (20 – 100 U/L)	5 – 20 U/L (5 – 20 U/L)
ALB	2,5 – 4,4 g/dL (25 – 44 g/L)	2,2 – 4,4 g/dL (22 – 44 g/L)	2,2 – 3,7 g/dL (22 – 37 g/L)
ALP	20 – 150 U/L (20 – 150 U/L)	10 – 90 U/L (10 – 90 U/L)	50 – 170 U/L (SI = 50 – 170 U/L)
BA²⁴	À jeun : 1 à 4 µmol/L (1 – 4 µmol/L) 2 h postprandial : 2 à 15 µmol/L (2 – 15 µmol/L) Seuil : 25 µmol/L** (25 µmol/L)	À jeun : 1 à 3 µmol/L (1 – 3 µmol/L) 2 h postprandial : 7 à 9 µmol/L (7 – 9 µmol/L) Seuil : 25 µmol/L** (25 µmol/L)	À jeun : S/O Postprandial: S/O Seuil : 25 µmol/L** (25 µmol/L)
TBIL	0,1– 0,6 mg/dL (2 – 10 µmol/L)	0,1 – 0,6 mg/dL (2 – 10 µmol/L)	0,5 – 2,3 mg/dL (9 – 39 µmol/L)
CHOL	125 – 270 mg/dL (3,2 – 7,0 mmol/L)	90 – 205 mg/dL (2,3 – 5,3 mmol/L)	50 – 140 mg/dL (1,3 – 3,6 mmol/L)
GGT	0 – 7 U/L (0 – 7 U/L)	0 – 2 U/L (0 – 2 U/L)	5 – 24 U/L (5 – 24 U/L)
BUN	7 – 25 mg/dL (2,5 – 8,9 mmol/L)	10 – 30 mg/dL (3,6 – 10,7 mmol/L)	7 – 25 mg/dL (2,5 – 8,9 mmol/L)

* (Unités SI)

** Seuils pour les acides biliaires (BA) définis sur une spécificité à 100 % avec une sensibilité de 74 % pour les chiens et les chats. Voir Ettinger & Feldman, référence 24, pages 1288-1290.

12. 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 2 : Plages dynamiques VetScan

Analyte	Plages dynamiques Unités communes	Unités SI
ALT	5 – 2000 U/L	5 – 2000 U/L
ALB	1 – 6,5 g/dL	10 – 65 g/L
ALP	5 – 2400 U/L	5 – 2400 U/L
BA	1 – 140 µmol/L	1 – 140 µmol/L
TBIL	0,1 – 30 mg/dL	1,7 – 513 µmol/L
CHOL	20 – 520 mg/dL	0,52 – 13,5 mmol/L
GGT	5 – 3000 U/L	5 – 3000 U/L
BUN	2 – 180 mg/dL	0,7 – 64,3 mmol urée/L

Précision

Des études de précision ont été effectuées selon les directives NCCLS EP5-A²⁵ avec des modifications basées sur NCCLS EP18-A²⁶ pour les appareils à utilisation par unité. Les résultats intra-test et de précision totale ont été déterminés en utilisant des témoins à deux niveaux.

Tableau 3 : Précision

Analyte	Taille de l'échantillon	Intra-test	Total
Alanine aminotransférase (U/L)	n = 80		
<u>Témoin n° 1</u>			
Moyenne		21	21
É-T		2,76	2,79
CV (%)		13,1	13,3
<u>Témoin n° 2</u>			
Moyenne		52	52
É-T		2,70	3,25
CV (%)		5,2	6,3
Albumine (g/dL)		n = 80	
<u>Témoin n° 1</u>			
Moyenne	3,9		3,9
É-T	0,13		0,14
CV (%)	3,3		3,6
<u>Témoin n° 2</u>			
Moyenne	2,3		2,3
É-T	0,09		0,10
CV (%)	3,9		4,3
Phosphatase alcaline (U/L)	n = 80		
<u>Témoin n° 1</u>			
Moyenne		39	39
É-T		1,81	2,29
CV (%)		4,6	5,9

Tableau 3 : Précision (suite)

Analyte	Taille de l'échantillon	Intra-test	Total
<u>Témoin n° 2</u>			
Moyenne		281	281
É-T		4,08	8,75
CV (%)		1,5	3,1
Acides biliaires (µmol/L)	n=40		
<u>Témoin n° 1</u>			
Moyenne		24	24
É-T		0,33	0,33
CV (%)		1,4	1,4
<u>Témoin n° 2</u>			
Moyenne		75	75
É-T		1,03	1,33
CV (%)		1,4	1,8
Bilirubine totale (mg/dL)	n = 80		
<u>Témoin n° 1</u>			
Moyenne		0,8	0,8
É-T		0,06	0,07
CV (%)		7,5	8,8
<u>Témoin n° 2</u>			
Moyenne		5,2	5,2
É-T		0,09	0,15
CV (%)		1,7	2,9
Cholestérol total (mg/dL)	n = 80		
<u>Témoin n° 1</u>			
Moyenne		204	204
É-T		6,64	6,84
CV (%)		3,3	3,4
<u>Témoin n° 2</u>			
Moyenne		275	275
É-T		6,46	8,00
CV (%)		2,3	2,9
Gamma glutamyl transférase (U/L)	n = 80		
<u>Témoin n° 1</u>			
Moyenne		25	25
É-T		0,59	0,74
CV (%)		2,3	2,9
<u>Témoin n° 2</u>			
Moyenne		106	106
É-T		1,52	2,29
CV (%)		1,4	2,2
Azote uréique (mg/dL)	n = 120		
<u>Témoin n° 1</u>			
Moyenne		19	19
É-T		0,35	0,40
CV (%)		1,8	2,1
<u>Témoin n° 2</u>			
Moyenne		65	65
É-T		1,06	1,18
CV (%)		1,6	1,8

Corrélation

Des études de terrain ont été réalisées dans un hôpital universitaire de médecine vétérinaire. Les échantillons de sérum ont été analysés avec l'analyseur de réaction chimique VetScan et une méthode comparative. Des statistiques de corrélation représentatives sont indiquées au tableau 4.

Tableau 4 : Corrélation de l'analyseur de réaction chimique VetScan avec la(les) méthode(s) comparative(s)

		Coefficient de corrélation	Pente	Ordonnée à l'origine	Plage d'échantillon
Aminotransférase alanine (U/L)	Chien	1,00	0,95	0	10 – 1549
	Félin	0,98	0,92	0	27 – 99
	Équin	0,97	0,94	6	11 – 30
Albumine (g/dL)	Chien	0,96	0,99	0,1	1,3 – 4,6
	Félin	0,75	1,02	0	2,1 – 4,8
	Équin	0,89	0,99	-0,6	1,2 – 3,2
Phosphatase alcaline (U/L)	Chien	1,00	0,89	-5	15 – 1722
	Félin	0,97	0,81	1	6 – 54
	Équin	1,00	0,90	-4	119 – 1476
Acides biliaires ($\mu\text{mol/L}$)	Chien	1,00	0,96	1	0 – 125
	Félin	1,00	1,09	-1	0 – 137
	Équin	*	*	*	*
Bilirubine totale (mg/dL)	Chien	0,87	0,84	0,1	0,1 – 3,2
	Félin	1,00	0,92	-0,3	0,4 – 15,0
	Équin	1,00	0,90	0,1	0,6 – 26,1
Cholestérol total (mg/dL)	Chien	0,99	0,99	6	103 – 450
	Félin	0,99	1,06	-3	63 – 257
	Équin	*	*	*	*
Gamma glutamyl transférase (U/L)	Chien	1,00	0,96	2	5 – 65
	Félin	*	*	*	*
	Équin	0,99	1,11	0	5 – 317
Azote uréique (mg/dL)	Chien	1,00	0,98	-2	4 – 117
	Félin	1,00	1,07	-5	14 – 165
	Équin	1,00	0,95	-1	3 – 64

* Non disponible

Remarque : Études de corrélation pour les chiens : n = 22 – 180 échantillons ; pour les chats : n = 21 – 55 échantillons, et pour les chevaux : n = 7 – 101.

13. Bibliographie

1. Wróblewski F, LaDue. Serum glutamic-pyruvic transaminase in cardiac and hepatic disease. Proc Soc Exp Biol Med 1956; 91: 569-71.
2. Bergmeyer HU, Horder M. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 3. IFCC method for alanine aminotransferase. J Clin Chem Clin Biochem 1980;18: 521-34.
3. Webster D, et al. An assessment on the suitability of bromocresol green for the determination of serum albumin. Clin Chim Acta 1974; 53: 101-8.
4. Bowers GN, et al. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 1. General considerations concerning the determination of the catalytic concentration of an enzyme in the blood serum or plasma of man. Clin Chim Acta 1979; 98: 163F-74F.
5. Ohmori Y. Über die Phosphomomesterase. Enzymologia 1937; 4: 217-31.
6. Fujita H. Über die Mikrobestimmung der Blutphosphatase. J Biochem, Japan 1937; 30: 69-87.
7. Petittclerc C, et al. Mechanism of action of Mg^{2+} and Zn^{2+} on rat placental alkaline phosphatase. I. Studies on the soluble Zn^{2+} and Mg^{2+} alkaline phosphatase. Can J Biochem 1975; 53: 1089-1100.
8. Tietz NW, et al. A reference method for measurement of alkaline phosphatase activity in human serum. Clin Chem 1983; 29: 751-61.
9. Malloy HT, Evelyn KA. The determination of bilirubin with the photoelectric colorimeter. J Biol Chem 1937; 119: 481-90.

10. Meites S. Bilirubin, direct reacting and total, modified Mally-Evelyn method. *In: Selected Methods of Clinical Chemistry*. Faulkner WR, Meites S, eds. Washington, DC: American Association for Clinical Chemistry. 1982: 119-24.
11. Murao S, Tanaka N. A new enzyme "bilirubin oxidase" produced by *Myrothecium verrucaria* MT-1. *Agric Biol Chem* 1981; 45: 2383-4.
12. Osaki S, Anderson S. Enzymatic determination of bilirubin. *Clin Chem* 1982; 30: 971 (Abstract).
13. Perry B, et al. Measurement of total bilirubin by use of bilirubin oxidase. *Clin Chem* 1986; 32: 329-32.
14. Kayamori, Y, et al. Endpoint colorimetric method for assaying total cholesterol in serum with cholesterol dehydrogenase. *Clin Chem* 1999; 45: 2158-2163.
15. Ball EG, Revel JP, Cooper O. The quantitative measurement of γ -glutamyl transpeptidase activity. *J Biol Chem* 1956; 221: 895-908.
16. Goldbarg JA, et al. The colorimetric determination of γ -glutamyl transpeptidase with a synthetic substrate. *Arch Biochem Biophys* 1960; 91: 61-70.
17. Orłowski M, Meister A. 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.
18. 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.
19. 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.
20. Sampson, 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.
21. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Procedures for handling and processing of blood specimens; approved guideline-2nd ed. NCCLS Document H18-A2. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
22. Sherwin JE and Obermolte R. Bilirubin. *In: Clinical Chemistry: Theory, Analysis and Correlation*, 2nd ed. Kaplan LA, Pesce AJ, eds. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 1009-1015.
23. Henry RJ, Canon DC, Winkelman. *Clinical Chemistry Principles and Technics*, 2nd ed. New York: Harper and Row; 1974; 417-21 & 127-8.
24. Leveille-Webster CR. Chapter 141. Laboratory diagnosis of hepatobiliary disease. *In: Textbook of Veterinary Internal Medicine*, Vol 2, 5th ed. Ettinger SJ, Feldman EC, eds. St. Louis: W.B. Saunders Company. 2000: 1288-1290.
25. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices; approved guideline. NCCLS Document EP5-A. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
26. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Quality management for unit-use testing; approved guideline. NCCLS Document EP18-A. Wayne, PA: NCCLS, 2002.

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

Mayo 2006
PN: 500-7128, Rev: B
© 2005 Abaxis, Inc. Union City, CA 94587

1. Indicaciones

El rotor reactivo de perfil de hígado de mamífero VetScan® utilizado con el analizador químico VetScan utiliza reactivos secos y líquidos para proporcionar determinaciones cuantitativas veterinarias *in vitro* de alanina aminotransferasa (ALT), albúmina (ALB), fosfatasa alcalina (ALP), ácidos biliares (BA), bilirrubina total (TBIL), colesterol total (CHOL), gammaglutamil transferasa (GGT) nitrógeno ureico (sanguíneo) (BUN) en sangre entera heparinizada, plasma heparinizado o suero.

2. Resumen y explicación de las pruebas

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

Alanina aminotransferasa (ALT)	Enfermedades hepáticas, incluidas la hepatitis viral y la cirrosis; cardiopatías.
Albúmina (ALB)	Enfermedades del hígado y del riñón.
Fosfatasa alcalina (ALP)	Enfermedades del hígado, óseas, paratiroideas e intestinales.
Ácidos biliares (BA)	Enfermedad hepatobiliar; anomalía vascular portosistémica (PSVA); derivación extrahepática.
Bilirrubina total (TBIL)	Trastornos hepáticos.
Colesterol total (CHOL)	Detección de hiperlipidemia; prueba de detección de hipotiroidismo e hiperadrenocorticismos.
Gammaglutamil transferasa (GGT)	Enfermedad del hígado, tumores hepáticos primarios y secundarios
Nitrógeno ureico sanguíneo (BUN)	Enfermedades del hígado y del riñón.

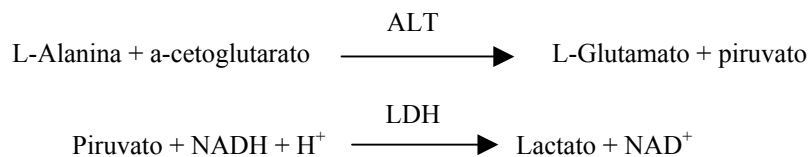
Al igual que con cualquier procedimiento diagnóstico de prueba, hay que considerar todos los procedimientos de prueba restantes, incluido el estado clínico del paciente, antes del diagnóstico final.

3. Principios del procedimiento

Alanina aminotransferasa

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

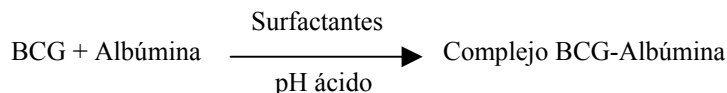
En esta reacción, la ALT cataliza la transferencia de un grupo amino de la L-alanina al α -cetoglutarato para formar L-glutamato y piruvato. La lactato deshidrogenasa cataliza la conversión de piruvato a lactato. Al mismo tiempo, la NADH se oxida a NAD⁺, como se observa en el esquema de la siguiente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



El índice de cambio de la diferencia de absorbancia entre 340 nm y 405 nm se debe a la conversión de NADH en NAD⁺ y es directamente proporcional a la cantidad de ALT en la muestra.

Albúmina

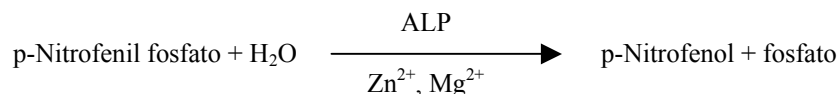
Los métodos usados con mayor frecuencia para la determinación de la albúmina son las técnicas de unión a colorantes. El bromocresol verde (BDG) es el más usado de los métodos de tinción³.



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.

Fosfatasa alcalina

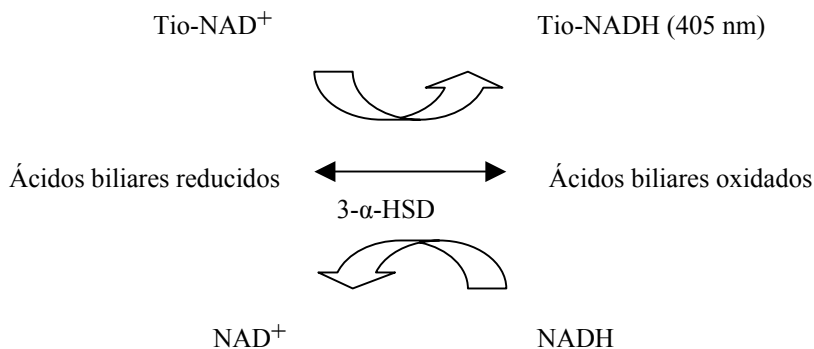
El procedimiento VetScan se modificó a partir de los métodos AACC e IFCC⁴. La fosfatasa alcalina hidroliza al *p*-NPP en un tampón con ión metálico y forma *p*-nitrofenol y fosfato. El uso de *p*-nitrofenil fosfato (*p*-NPP) aumenta la velocidad de la reacción^{5, 6}. La fiabilidad de esta técnica aumenta significativamente con el uso de un tampón con ión metálico para mantener la concentración de iones magnesio y zinc en la reacción⁷. El método de referencia de la Asociación Norteamericana de Química Clínica (AFCC) usa *p*-NPP como sustrato y un amortiguador con ión metálico⁸.



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

Ácidos biliares

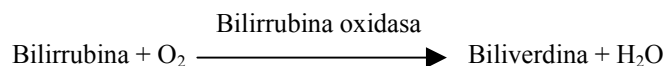
En presencia del tioderivado de la nicotinamida adenina dinucleótido (Tio-NAD⁺), la enzima 3- α -hidroxiesteroide deshidrogenasa (3- α -HSD) oxida de manera reversible los ácidos biliares a ácidos biliares oxidados (formas 3- α -ceto) con la conversión concomitante del Tio-NAD⁺ a su forma reducida (Tio-NADH). 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 NAD⁺. En el sistema Abaxis, se suministran Tio-NAD⁺, NADH y 3- α -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.



Bilirrubina total

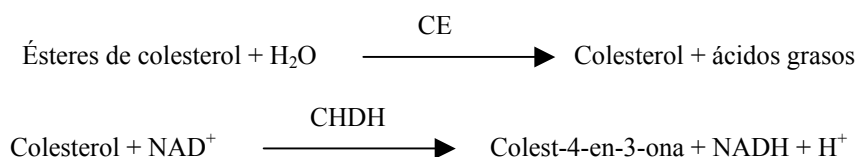
Típicamente, los niveles de bilirrubina total eran medidos por pruebas que emplean ácido sulfanílico diazotizado^{9,10}. Ahora, se ha desarrollado un método más nuevo y más específico que utiliza a la enzima bilirrubina oxidasa¹¹⁻¹³. Además de usar el método de prueba de la bilirrubina total, más específico, la fotodegradación del electrolito se minimiza con el analizador porque la muestra puede ser analizada inmediatamente después de su obtención.

En el procedimiento enzimático, la bilirrubina se oxida por la bilirrubina oxidasa en biliverdina. La bilirrubina se mide como la diferencia en la absorbancia entre 467 nm y 550 nm. La absorbancia inicial de esta reacción de punto final se determina por la cubeta de referencia con bilirrubina y la absorbancia final se obtiene de la cubeta de prueba con bilirrubina. La cantidad de bilirrubina en la muestra es proporcional a la diferencia entre las mediciones inicial y final de la absorbancia.



Colesterol total

El análisis CHOL Piccolo de Abaxis es un método con criterio de valoración enzimático que utiliza la colesterol esterasa (CE) y la colesterol deshidrogenasa¹⁴.

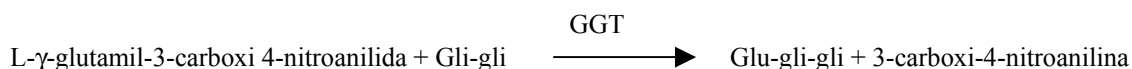


La CE hidroliza los ésteres de colesterol para formar colesterol y ácidos grasos. La reacción CHDH convierte al colesterol en colest-4-en-3-ona. La NADH se evalúa bicromáticamente a 340 nm y 405 nm. La producción de NADH es directamente proporcional a la cantidad de colesterol presente. También se controla una referencia específica para el análisis a fin de asegurar que ninguna reacción extraña interfiera con los cálculos de los niveles de CHOL.

Gammaglutamil transferasa

Los primeros métodos cuantitativos desarrollados para medir la gammaglutamil transferasa (GGT) precisaban una segunda reacción para formar un colorante azoico que se combinaba con un cromóforo^{15,16}. El cambio a L-γ-glutamyl-*p*-nitroanilida como el sustrato en la reacción eliminó el paso de formación del colorante¹⁷. Debido a la pobre solubilidad y estabilidad de L-γ-glutamyl-*p*-nitroanilida, este procedimiento fue modificado para usar el sustrato L-γ-glutamyl-3-carboxi-4-nitroanilida¹⁸. El método GGT recomendado por la Federación Internacional de Química Clínica (IFCC) se basaba en el último sustrato, con glicilicina como el otro sustrato¹⁹.

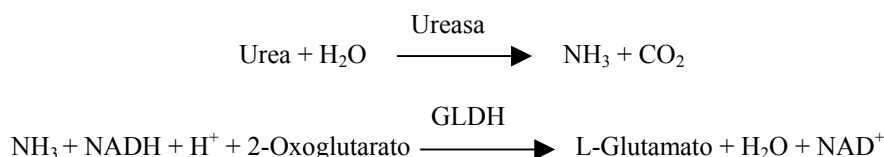
Abaxis modificó el método IFCC para que reaccione a 37° C. El agregado de una muestra con gamma glutamil transferasa a los sustratos L-γ-glutamyl-3-carboxi-4-nitroanilida y glicilicina (gli-gli) causa la formación de L-γ-glutamyl-glicilicina (glu-gli-gli) y 3-carboxi-4-nitroanilina.



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

Nitrógeno ureico

El sistema Abaxis utiliza una reacción enzimática acoplada. En esta reacción, la ureasa hidroliza la urea en amoníaco y dióxido de carbono²⁰. Al combinarse el amoníaco con 2-oxoglutarato y nicotinamida adenina dinucleótido reducida (NADH), la enzima glutamato deshidrogenasa (GLDH) oxida la NADH en NAD⁺.



El índice de cambio de la diferencia de absorbancia entre 340 nm y 405 nm se debe a la conversión de NADH en NAD⁺ y es directamente proporcional a la cantidad de urea en la muestra. Principios de la operación

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 hígado de mamífero VetScan contiene soportes sólidos reactivos específicos para pruebas secas. Un reactivo seco de muestra de referencia (con amortiguador, surfactantes, excipientes y conservantes) se incluye en cada rotor reactivo para utilizar en el cálculo de las concentraciones de alanina aminotransferasa, albúmina, fosfatasa alcalina, ácidos biliares, bilirrubina total, colesterol total, gammaglutamil transferasa y nitrógeno ureico (sanguíneo). Se incluyen muestras de referencia dedicadas en el rotor para calcular la concentración de bilirrubina total y los niveles de colesterol total. Cada rotor reactivo contiene también un diluyente que consiste en surfactantes y conservantes.

Advertencias y precauciones

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

Instrucciones para la manipulación de los reactivos

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

Almacenamiento

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

Indicaciones de inestabilidad o deterioro del rotor reactivo

- Todos los reactivos contenidos en el rotor reactivo, cuando se almacena tal como se describe más arriba, son estables hasta la fecha de caducidad impresa en la bolsa del rotor. **No** utilice un rotor después de la fecha de caducidad. La fecha de caducidad también aparece codificada en el código de barras impreso en el anillo del código de barras. Si los reactivos han caducado, aparecerá un mensaje de error en la pantalla del analizador químico VetScan.

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

7. Obtención y preparación de las muestras

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

- La muestra recogida en una micropipeta heparinizada debe dispensarse en el rotor reactivo **inmediatamente** después de la recolección de la muestra.

- Para las muestras de sangre o plasma use sólo tubos de recolección de muestras tratados con heparina litio (tapón verde). Para las muestras de suero use tubos para obtención de muestras sin aditivo (tapón rojo) o tubos separadores de suero (tapón rojo o rojo/negro).
- Las muestras de sangre entera obtenidas por venopunción deben homogeneizarse antes de transferir una muestra al rotor reactivo. Invierta cuidadosamente los tubos para obtención de muestras varias veces justo antes de transferir la muestra. **No** agite el tubo de recolección. La agitación puede causar hemólisis.
- La prueba debe comenzarse en los 10 minutos siguientes a la transferencia de la muestra al rotor reactivo.
- Las muestras de sangre entera obtenidas por venopunción deben analizarse en los 60 minutos de la recolección; si esto no es posible, separe la muestra y transfírela a un tubo de ensayo limpio²¹. 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.
- Los resultados de la **bilirrubina total** pueden verse afectados de manera negativa por la fotodegradación²². Las muestras de sangre entera que no se analicen de inmediato se deben almacenar en la oscuridad por períodos que no excedan los 60 minutos. Si la muestra no puede ser analizada dentro de dicho período, se la puede separar en plasma o suero, y almacenar en un tubo de muestra con tapa en la oscuridad a baja temperatura²³.

Sustancias conocidas como interferencias

- El único anticoagulante recomendado para uso con el analizador químico VetScan es heparina de litio. No debe usarse heparina sódica durante la recolección de muestras de sangre para ser utilizadas con este panel. Abaxis realizó estudios que demuestran que el EDTA, fluoruro, oxalato y cualquier anticoagulante con iones de amoníaco interferirán con por lo menos un producto químico del rotor reactivo de perfil de hígado de mamífero VetScan.
- 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 químico VetScan suprime cualquier resultado que sea afectado por más del 10% de interferencia por hemólisis, lipidemia o ictericia. “HEM”, “LIP” o “ICT” se imprime en la tarjeta de resultado en vez del resultado.

8. Procedimiento

Materiales suministrados

- Un rotor reactivo de perfil de hígado de mamífero PN: 500 -1040 (una caja de 10 rotores, PN: 500-0040)

Materiales necesarios pero no suministrados

- Analizador químico VetScan

Parámetros de prueba

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

Procedimiento de prueba

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

Calibrado

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

Control de calidad

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

9. Resultados

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

10. Limitaciones del procedimiento

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

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

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

11. Valores esperados

Estos intervalos normales sólo se proporcionan como una recomendación. Los intervalos de referencia más definitivos son aquellos establecidos para su población de pacientes. Los resultados deben interpretarse conjuntamente con las señales clínicas del paciente. Para personalizar los intervalos normales específicos del analizador químico VetScan para el “otro” banco, consulte el Manual del usuario de VetScan bajo las funciones de las teclas de menú.

Tabla 1: Intervalos de referencia

	Canino	Felino	Equino
ALT	10 – 118 U/l (10 – 118 U/l)*	20 – 100 U/l (20 – 100 U/l)	5 – 20 U/l (5 – 20 U/l)
ALB	2,5 – 4,4 g/dl (25 – 44 g/l)	2,2 – 4,4 g/dl (22 – 44 g/l)	2,2 – 3,7 g/dl (22 – 37 g/l)
ALP	20 – 150 U/l (20150 U/l)	10 – 90 U/l (10 – 90 U/l)	50 – 170 U/l (SI = 50 – 170 U/l)
BA²⁴	En ayunas: 1 – 4 µmol/l (1 – 4 µmol/l) 2 Hrs postprandial: 2 – 15 µmol/l (2 – 15 µmol/l) Discriminatorio: 25 µmol/l** (25 µmol/l)	En ayunas: 1 – 3 µmol/l (1 – 3 µmol/l) 2 Hrs postprandial: 7 – 9 µmol/l (7 – 9 µmol/l) Discriminatorio: 25 µmol/l** (25 µmol/l)	En ayunas: NA Postprandial: NA Discriminatorio: 25 µmol/l** (25 µmol/l)
TBIL	0,3 – 0,6 mg/dl (2 – 10 µmol/l)	0,1 – 0,6 mg/dl (2 – 10 µmol/l)	0,5 – 2,3 mg/dl (9 – 39 µmol/l)
CHOL	125 – 270 mg/dl (3,2 – 7,0 mmol/l)	90 – 205 mg/dl (2,3 – 5,3 mmol/l)	50 – 140 mg/dl (1,3 – 3,6 mmol/l)
GGT	0 – 7 U/l (0 – 7 U/l)	0 – 2 U/l (0 – 2 U/l)	5 – 24 U/l (5 – 24 U/l)
BUN	7 – 25 mg/dl (2,5 – 8,9 mmol/l)	10 – 30 mg/dl (3,6 – 10,7 mmol/l)	7 – 25 mg/dl (2,5 – 8,9 mmol/l)

* (Unidades SI)

** El nivel discriminatorio para ácidos biliares (BA) se ajusta para un 100% de especificidad con una sensibilidad del 74% para perros y gatos. Véase Ettinger y Feldman, referencia 24, páginas 1288-1290.

12. Características de rendimiento

Linealidad

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

Tabla 2: Intervalos dinámicos de VetScan

Analito	Intervalos dinámicos	
	Unidades comunes	Unidades SI
ALT	5 – 2000 U/l	5 – 2000 U/l
ALB	1 – 6,5 g/dl	10 – 65 g/l
ALP	5 – 2400 U/l	5 – 2400 U/l
BA	1 – 140 µmol/l	1 – 140 µmol/l
TBIL	0,1 – 30 mg/dl	1,7 – 513 µmol/l
CHOL	20 – 520 mg/dl	0,52 – 13,5 mmol/l
GGT	5 – 3000 U/l	5 – 3000 U/l
BUN	2 – 180 mg/dl	0,7 – 64,3 mmol urea/l

Precisión

Los estudios de precisión fueron conducidos mediante las recomendaciones NCCLS EP5-A²⁵, con modificaciones basadas en NCCLS EP18-A²⁶ para equipos utilizados en unidad. Los resultados para los análisis intraserials y de precisión total fueron determinados evaluando controles de dos niveles.

Tabla 3: Precisión

Analito	Tamaño de la muestra	Intraserial	Total
Alanina			
Aminotransferasa (U/l)			
n=80			
<u>Control 1</u>			
Media		21	21
DE		2,76	2,79
% VR		13,1	13,3
<u>Control 2</u>			
Media		52	52
DE		2,70	3,25
% VR		5,2	6,3
Albúmina (g/dl)			
n=80			
<u>Control 1</u>			
Media		3,9	3,9
DE		0,13	0,14
% VR		3,3	3,6
<u>Control 2</u>			
Media		2,3	2,3
DE		0,09	0,10
% VR		3,9	4,3
Fosfatasa alcalina (U/l)			
n=80			
<u>Control 1</u>			
Media		39	39
DE		1,81	2,29
% VR		4,6	5,9

Tabla 3: Precisión (continuación)

Analito	Tamaño de la muestra	Intraserial	Total
<u>Control 2</u>			
Media		281	281
DE		4,08	8,75
% VR		1,5	3,1
Ácidos biliares (µmol/l)	n=40		
<u>Control 1</u>			
Media		24	24
DE		0,33	0,33
% VR		1,4	1,4
<u>Control 2</u>			
Media		75	75
DE		1,03	1,33
% VR		1,4	1,8
Bilirrubina total (mg/dl)	n=80		
<u>Control 1</u>			
Media		0,8	0,8
DE		0,06	0,07
% VR		7,5	8,8
<u>Control 2</u>			
Media		5,2	5,2
DE		0,09	0,15
% VR		1,7	2,9
Colesterol total (mg/dl)	n=80		
<u>Control 1</u>			
Media		204	204
DE		6,64	6,84
% VR		3,3	3,4
<u>Control 2</u>			
Media		275	275
DE		6,46	8,00
% VR		2,3	2,9
Gammaglutamil transferasa (U/l)	n=80		
<u>Control 1</u>			
Media		25	25
DE		0,59	0,74
% VR		2,3	2,9
<u>Control 2</u>			
Media		106	106
DE		1,52	2,29
% VR		1,4	2,2
Nitrógeno ureico (mg/dl)	n=120		
<u>Control 1</u>			
Media		19	19
DE		0,35	0,40
% VR		1,8	2,1
<u>Control 2</u>			
Media		65	65
DE		1,06	1,18
% VR		1,6	1,8

Correlación

Fueron realizados estudios en terreno en un hospital de enseñanza de medicina veterinaria. Se analizaron muestras de suero usando el analizador químico VetScan y un método comparativo. En la tabla 4 se muestran las estadísticas de correlación representativas.

Tabla 4: Correlación del analizador químico VetScan con uno o más métodos comparativos

		Coefficiente de correlación	Pendiente	Intersección	Límites de la muestra
Alanina aminotransferasa (U/l)	Canino	1,00	0,95	0	10 – 1549
	Felino	0,98	0,92	0	27 – 99
	Equino	0,97	0,94	6	11 – 30
Albúmina (g/dl)	Canino	0,96	0,99	0,1	1,3 – 4,6
	Felino	0,75	1,02	0	2,1 – 4,8
	Equino	0,89	0,99	-0,6	1,2 – 3,2
Fosfatasa alcalina (U/l)	Canino	1,00	0,89	-5	15 – 1722
	Felino	0,97	0,81	1	6 – 54
	Equino	1,00	0,90	-4	119 – 1476
Ácidos biliares (µmol/l)	Canino	1,00	0,96	1	0 – 125
	Felino	1,00	1,09	-1	0 – 137
	Equino	*	*	*	*
Bilirrubina total (mg/dl)	Canino	0,87	0,84	0,1	0,1 – 3,2
	Felino	1,00	0,92	-0,3	0,4 – 15,0
	Equino	1,00	0,90	0,1	0,6 – 26,1
Colesterol total (mg/dl)	Canino	0,99	0,99	6	103 – 450
	Felino	0,99	1,06	-3	63 – 257
	Equino	*	*	*	*
Gammaglutamil transferasa (U/l)	Canino	1,00	0,96	2	5 – 65
	Felino	*	*	*	*
	Equino	0,99	1,11	0	5 – 317
Nitrógeno ureico (mg/dl)	Canino	1,00	0,98	-2	4 – 117
	Felino	1,00	1,07	-5	14 – 165
	Equino	1,00	0,95	-1	3 – 64

* No disponible

Nota: Los estudios de correlación para perros incluyeron n = 22 – 180 muestras; para gatos incluyeron n = 21 – 55 muestras; y para caballos n = 7 – 101.

13. Bibliografía

1. Wróblewski F, LaDue. Serum glutamic-pyruvic transaminase in cardiac and hepatic disease. Proc Soc Exp Biol Med 1956; 91: 569-71.
2. Bergmeyer HU, Horder M. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 3. IFCC method for alanine aminotransferase. J Clin Chem Clin Biochem 1980;18: 521-34.
3. Webster D, et al. An assessment on the suitability of bromocresol green for the determination of serum albumin. Clin Chim Acta 1974; 53: 101-8.
4. Bowers GN, et al. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 1. General considerations concerning the determination of the catalytic concentration of an enzyme in the blood serum or plasma of man. Clin Chim Acta 1979; 98: 163F-74F.
5. Ohmori Y. Uber die Phosphomomesterase. Enzymologia 1937; 4: 217-31.
6. Fujita H. Uber die Mikrobestimung der Blutphosphatase. J Biochem, Japan 1937; 30: 69-87.
7. Petitclerc C, et al. Mechanism of action of Mg²⁺ and Zn²⁺ on rat placental alkaline phosphatase. I. Studies on the soluble Zn²⁺ and Mg²⁺ alkaline phosphatase. Can J Biochem 1975; 53: 1089-1100.
8. Tietz NW, et al. A reference method for measurement of alkaline phosphatase activity in human serum. Clin Chem 1983; 29: 751-61.
9. Malloy HT, Evelyn KA. The determination of bilirubin with the photoelectric colorimeter. J Biol Chem 1937; 119: 481-90.

10. Meites S. Bilirubin, direct reacting and total, modified Mally-Evelyn method. *In: Selected Methods of Clinical Chemistry*. Faulkner WR, Meites S, eds. Washington, DC: American Association for Clinical Chemistry. 1982: 119-24.
11. Murao S, Tanaka N. A new enzyme "bilirubin oxidase" produced by *Myrothecium verrucaria* MT-1. *Agric Biol Chem* 1981; 45: 2383-4.
12. Osaki S, Anderson S. Enzymatic determination of bilirubin. *Clin Chem* 1982; 30: 971 (Abstract).
13. Perry B, et al. Measurement of total bilirubin by use of bilirubin oxidase. *Clin Chem* 1986; 32: 329-32.
14. Kayamori, Y, et al. Endpoint colorimetric method for assaying total cholesterol in serum with cholesterol dehydrogenase. *Clin Chem* 1999; 45: 2158-2163.
15. Ball EG, Revel JP, Cooper O. The quantitative measurement of γ -glutamyl transpeptidase activity. *J Biol Chem* 1956; 221: 895-908.
16. Goldbarg JA, et al. The colorimetric determination of γ -glutamyl transpeptidase with a synthetic substrate. *Arch Biochem Biophys* 1960; 91: 61-70.
17. Orłowski M, Meister A. 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.
18. 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.
19. 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.
20. Sampson, 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.
21. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Procedures for handling and processing of blood specimens; approved guideline-2nd ed. NCCLS Document H18-A2. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
22. Sherwin JE and Oberholte R. Bilirubin. *In: Clinical Chemistry: Theory, Analysis and Correlation*, 2nd ed. Kaplan LA, Pesce AJ, eds. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 1009-1015.
23. Henry RJ, Canon DC, Winkelman. *Clinical Chemistry Principles and Technics*, 2nd ed. New York: Harper and Row; 1974; 417-21 & 127-8.
24. Leveille-Webster CR. Chapter 141. Laboratory diagnosis of hepatobiliary disease. *In: Textbook of Veterinary Internal Medicine*, Vol 2, 5th ed. Ettinger SJ, Feldman EC, eds. St. Louis: W.B. Saunders Company. 2000: 1288-1290.
25. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices; approved guideline. NCCLS Document EP5-A. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
26. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Quality management for unit-use testing; approved guideline. NCCLS Document EP18-A. Wayne, PA: NCCLS, 2002.

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

Maggio 2006

N. parte: 500-7128, Rev. B

© 2005, Abaxis, Inc., Union City, CA 94587, U.S.A.

1. Uso previsto

Il rotore reagente Profilo fegato mammiferi VetScan® usato con l'analizzatore chimico VetScan impiega reagenti secchi e liquidi per fornire determinazioni quantitative *in vitro* per uso veterinario di alanino aminotransferasi (ALT), albumina (ALB), fosfatasi alcalina (ALP), acidi biliari (BA), bilirubina totale (TBIL), colesterolo totale (CHOL), gamma glutamil transferasi (GGT) e azoto ureico (BUN) in sangue intero eparinizzato, plasma eparinizzato o siero.

2. Sommario e spiegazione dei test

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

Alanino aminotransferasi (ALT)	Malattie epatiche, incluse epatite virale e cirrosi, cardiopatie.
Albumina (ALB)	Malattia epatica e renale.
Fosfatasi alcalina (ALP)	Malattie epatiche, ossee, paratiroidi e intestinali.
Acidi biliari (BA)	Malattia epatobiliare; anomalia vascolare portosistemica (PSVA); shunt extraepatico.
Bilirubina totale (TBIL)	Disturbi epatici.
Colesterolo totale (CHOL)	Rilevazione di iperlipidemia; test di screening per ipotiroidismo e iperadrenocorticismo.
Gamma glutamil transferasi (GGT)	Malattia epatica, tumori epatici primari e secondari
Azoto ureico ematico (BUN)	Malattie epatiche e renali.

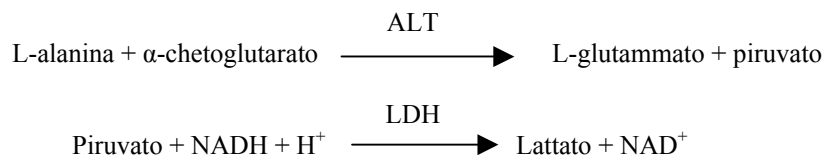
Come per ogni test diagnostico, prima della diagnosi definitiva è opportuno considerare tutte le altre procedure di analisi, incluso lo stato clinico del paziente.

3. Principi della procedura

Alanino aminotransferasi

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

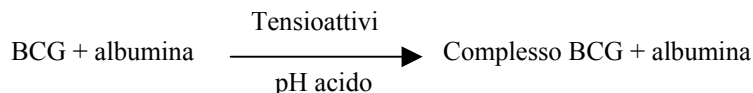
In questa reazione, ALT catalizza il trasferimento di un amminogruppo da L-alanina ad α -chetoglutarato per formare L-glutamato e piruvato. La lattato deidrogenasi catalizza la conversione del piruvato in lattato. Al contempo, l' NADH viene ossidato in NAD^+ , come illustrato nello schema di reazione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

Albumina

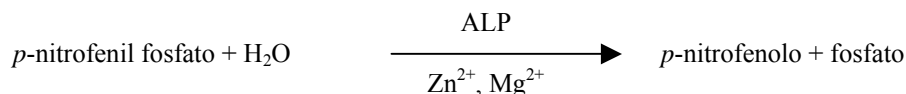
Le tecniche colorimetriche sono i metodi più frequentemente usati per misurare l'albumina. Il verde bromocresolo (BCG) è l'agente più comunemente usato per i metodi colorimetrici.³



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

Fosfatasi alcalina

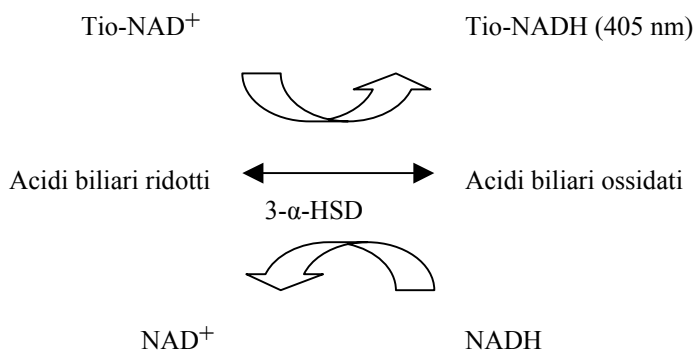
La procedura VetScan è modificata rispetto ai metodi AACC ed IFCC.⁴ La fosfatasi alcalina idrolizza *p*-NPP in un tampone a ioni metallici e forma *p*-nitrofenolo e fosfato. L'uso di *p*-nitrofenil fosfato (*p*-NPP) aumenta la velocità della reazione.^{5, 6} L'uso di un tampone a ioni metallici per mantenere la concentrazione di ioni magnesio e zinco nella reazione, accresce notevolmente l'affidabilità di questa tecnica.⁷ Il metodo di riferimento della American Association for Clinical Chemistry (AACC) utilizza *p*-NPP come substrato e un tampone a ioni metallici.⁸



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

Acidi biliari

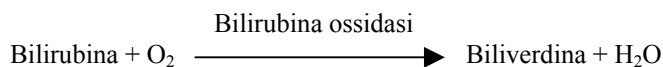
In presenza del tio-derivato del nicotinammide adenin dinucleotide (tio-NAD⁺), l'enzima 3- α -idrossisteroide deidrogenasi (3- α -HSD) ossida in modo reversibile gli acidi biliari in acidi biliari ossidati (forme 3- α -cheto) con concomitante conversione di tio-NAD⁺ nella rispettiva forma ridotta (tio-NADH).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



Bilirubina totale

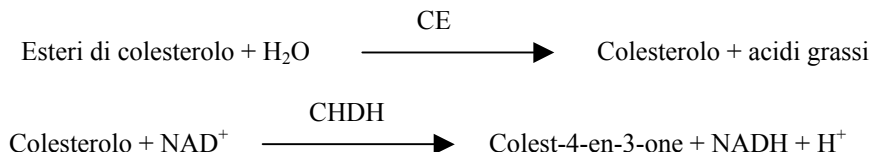
I livelli di bilirubina totale sono stati generalmente misurati con test che impiegano l'acido solfanilico diazotato.^{9,10} È stato sviluppato un nuovo metodo più specifico che utilizza l'enzima bilirubina ossidasi.¹¹⁻¹³ Oltre a impiegare il metodo di test più specifico della bilirubina totale, l'analizzatore riduce al minimo la fotodegradazione dell'analita perché il campione può essere testato subito dopo la raccolta.

Nella procedura enzimatica, la bilirubina viene ossidata dalla bilirubina ossidasi in biliverdina. La bilirubina viene quantificata come la differenza di assorbanza tra 467 nm e 550 nm. L'assorbanza iniziale di questa reazione di endpoint viene determinata dalla cuvetta in bianco della bilirubina e l'assorbanza finale è data dalla cuvetta del test della bilirubina. La quantità di bilirubina presente nel campione è proporzionale alla differenza tra le misurazioni di assorbanza iniziale e finale.



Colesterolo totale

Il dosaggio CHOL Abaxis Piccolo è un metodo endpoint enzimatico che utilizza colesterolo esterasi (CE) e colesterolo deidrogenasi (CHDH).¹⁴



La CE idrolizza gli esteri di colesterolo formando colesterolo e acidi grassi. La reazione CHDH converte il colesterolo in colest-4-en-3-one. L'NADH viene misurato bicromaticamente a 340 nm e 405 nm. La produzione di NADH è direttamente proporzionale alla quantità di colesterolo presente. Viene inoltre monitorato un campione bianco specifico per il dosaggio per garantire che nessuna reazione estranea interferisca con i calcoli dei livelli di CHOL.

Gamma glutamil transferasi

I primi metodi quantitativi sviluppati per misurare la gamma glutamil transferasi (GGT) comportavano una seconda reazione per formare un colorante azoico che si combinava con un cromoforo.^{15,16} Il passaggio a L- γ -glutamyl-*p*-nitroanilide come substrato nella reazione ha eliminato la fase di formazione del colorante.¹⁷ Date le scarse solubilità e stabilità di L- γ -glutamyl-*p*-nitroanilide, questa procedura è stata modificata al fine di usare il substrato L- γ -glutamyl-3-carbossi-4-nitroanilide.¹⁸ Il metodo GGT raccomandato dalla International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) si basa su quest'ultimo substrato, con glicilglicina come altro substrato.¹⁹

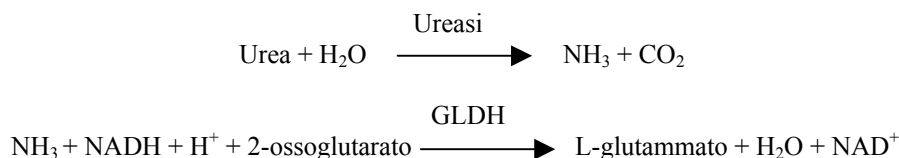
Abaxis ha modificato il metodo IFCC per la reazione a 37 °C. L'aggiunta di campione contenente gamma glutamil transferasi ai substrati L- γ -glutamyl-3-carbossi-4-nitroanilide e glicilglicina (gli-gli) causa la formazione di L- γ -glutamyl-glicilglicina (glu-gli-gli) e 3-carbossi-4-nitroanilina.



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

Azoto ureico

Il sistema Abaxis impiega una reazione enzimatica accoppiata, in cui l'ureasi idrolizza l'urea in ammoniaca e anidride carbonica.²⁰ Combinando l'ammoniaca con 2-ossoglutarato e nicotinammide adenin dinucleotide (NADH) ridotto, l'enzima glutammato deidrogenasi (GLDH) ossida l'NADH in NAD⁺.



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

4. Principio del test

Per i principi e i limiti della procedura, vedere il manuale d'uso dell'analizzatore chimico VetScan.

5. Descrizione dei reagenti

Reagenti

Ogni rotore reagente Profilo fegato mammiferi VetScan 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 alanina aminotransferasi, albumina, fosfatasi alcalina, acidi biliari, bilirubina totale, colesterolo totale, gamma glutamil transferasi e azoto ureico (ematico). Il rotore comprende campioni bianchi dedicati per calcolare la concentrazione di bilirubina totale e livelli di proteine totali. Ciascun rotore reagente contiene anche un diluente composto da tensioattivi e conservanti.

Avvertenze e precauzioni

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

Istruzioni per la manipolazione del reagente

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

Conservazione

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

Indicazioni di instabilità o deterioramento del rotore reagente

- Tutti i reagenti contenuti nell'apposito rotore, se conservati nel modo sopra descritto, sono stabili sino alla data di scadenza stampata sul sacchetto del rotore. **Non** utilizzare un rotore dopo la data di scadenza. La data di scadenza è codificata anche nel codice a barre stampato sull'apposito anello. Se i reagenti sono scaduti, sul display dell'analizzatore chimico VetScan viene visualizzato un messaggio di errore.

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 VetScan.

7. Raccolta e preparazione dei campioni

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

- Il campione raccolto in una micropipetta eparinizzata deve essere dispensato nel rotore reagente **subito** dopo la raccolta.
- Per campioni di sangue intero o di plasma, utilizzare solo provette per prelievo sottovuoto con litio eparina (tappo verde). Per campioni di siero, utilizzare provette per prelievo sottovuoto senza additivi (tappo rosso) o provette per separazione del siero (tappo rosso o rosso/nero).

- I campioni di sangue intero prelevati mediante venipuntura devono essere omogenei prima di essere trasferiti nel rotore reagente. Capovolgere delicatamente le provette di prelievo alcune volte prima di trasferire il campione. **Non** agitare la provetta di prelievo in quanto ciò potrebbe provocare emolisi.
- Iniziare il test entro 10 minuti dal trasferimento del campione nel rotore reagente.
- Analizzare i campioni di sangue intero prelevati mediante venipuntura entro 60 minuti dalla raccolta; qualora ciò non fosse possibile, separare il campione e trasferirlo in una provetta pulita.²¹ 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.
- I risultati della **bilirubina totale** possono essere negativamente influenzati dalla fotodegradazione.²² Conservare i campioni di sangue intero al buio per non più di 60 minuti. Se il campione non può essere analizzato entro tale periodo, separarlo in plasma o siero e conservarlo in una provetta tappata, al buio, a basse temperature.²³

Sostanze interferenti conosciute

- L'unico anticoagulante raccomandato per l'uso con l'analizzatore chimico VetScan è la litio eparina. Non usare eparina sodica quando si raccolgono campioni di sangue da usare con questo pannello. Abaxis ha condotto studi che dimostrano come EDTA, fluoruro, ossalato e qualsiasi anticoagulante contenente ioni ammonio interferiscano con almeno una delle sostanze chimiche contenute nel rotore reagente Profilo fegato mammiferi VetScan.
- 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 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).

8. Procedura

Materiali forniti

- Un rotore reagente Profilo fegato mammiferi VetScan, numero parte: 500-1040 (una confezione di 10 rotori, numero parte: 500-0040)

Materiali necessari ma non forniti

- Analizzatore chimico VetScan

Parametri del test

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

Procedura del test

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

Calibrazione

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

Controllo di qualità

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

9. Risultati

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

10. Limiti della procedura

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

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

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

11. Valori attesi

I seguenti intervalli normali sono forniti a titolo puramente indicativo. Gli intervalli di riferimento più attendibili sono quelli stabiliti per la propria popolazione di pazienti. I risultati dei test devono essere interpretati in associazione al quadro clinico del paziente. Per personalizzare range normali specifici sul proprio analizzatore chimico VetScan per la serie "Other" (Altro), consultare il manuale d'uso VetScan alla voce "Menu Key functions" (funzioni dei tasti di menu).

Tabella 1: Intervalli di riferimento

	Cani	Gatti	Equini
ALT	10 – 118 U/L (10 – 118 U/L)*	20 – 100 U/L (20 – 100 U/L)	5 – 20 U/L (5 – 20 U/L)
ALB	2,5 – 4,4 g/dL (25 – 44 g/L)	2,2 – 4,4 g/dL (22 – 44 g/L)	2,2 – 3,7 g/dL (22 – 37 g/L)
ALP	20 – 150 U/L (20 – 150 U/L)	10 – 90 U/L (10 – 90 U/L)	50 – 170 U/L (SI = 50 – 170 U/L)
BA²⁴	Fasting: 1 – 4 µmol/L (1 – 4 µmol/L) 2 ore dopo i pasti: 2 – 15 µmol/L (2 – 15 µmol/L) Cutoff: 25 µmol/L** (25 µmol/L)	A digiuno: 1 – 3 µmol/L (1 – 3 µmol/L) 2 ore dopo i pasti: 7 – 9 µmol/L (7 – 9 µmol/L) Cutoff: 25 µmol/L** (25 µmol/L)	A digiuno: NA Dopo i pasti: NA Cutoff: 25 µmol/L** (25 µmol/L)
TBIL	0,1 – 0,6 mg/dL (2 – 10 µmol/L)	0,1 – 0,6 mg/dL (2 – 10 µmol/L)	0,5 – 2,3 mg/dL (9 – 39 µmol/L)
CHOL	125 – 270 mg/dL (3,2 – 7,0 mmol/L)	90 – 205 mg/dL (2,3 – 5,3 mmol/L)	50 – 140 mg/dL (1,3 – 3,6 mmol/L)
GGT	0 – 7 U/L (0 – 7 U/L)	0 – 2 U/L (0 – 2 U/L)	5 – 24 U/L (5 – 24 U/L)
BUN	7 – 25 mg/dL (2,5 – 8,9 mmol/L)	10 – 30 mg/dL (3,6 – 10,7 mmol/L)	7 – 25 mg/dL (2,5 – 8,9 mmol/L)

* (Unità SI)

** Cutoff per acidi biliari (BA) impostati per una specificità del 100% con una sensibilità del 74% per cani e gatti. Cfr. Ettinger & Feldman, riferimento bibliografico 24, pagine 1288-1290.

12. Caratteristiche prestazionali

Linearità

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

Tabella 2: Range dinamici VetScan

Analita	Range dinamici	
	Unità comuni	Unità SI
ALT	5 – 2000 U/L	5 – 2000 U/L
ALB	1 – 6,5 g/dL	10 – 65 g/L
ALP	5 – 2400 U/L	5 – 2400 U/L
BA	1 – 140 µmol/L	1 – 140 µmol/L
TBIL	0,1 – 30 mg/dL	1,7 – 513 µmol/L
CHOL	20 – 520 mg/dL	0,52 – 13,5 mmol/L
GGT	5 – 3000 U/L	5 – 3000 U/L
BUN	2 – 180 mg/dL	0,7 – 64,3 mmol urea/L

Precisione

Studi di precisione sono stati effettuati seguendo le linee guida NCCLS EP5-A²⁵ con modifiche basate su NCCLS EP18-A²⁶ per i dispositivi a utilizzo unitario. I risultati di precisione intra-sessione e totale sono stati determinati testando controlli bi-livello.

Tabella 3: Precisione

Analita	Dimensioni del campione	Intra-sessione	Totale
Alanino aminotransferasi (U/L)			
	n = 80		
<u>Controllo 1</u>			
Media		21	21
SD		2,76	2,79
%CV		13,1	13,3
<u>Controllo 2</u>			
Media		52	52
SD		2,70	3,25
%CV		5,2	6,3
Albumina (g/dL)			
	n = 80		
<u>Controllo 1</u>			
Media		3,9	3,9
SD		0,13	0,14
%CV		3,3	3,6
<u>Controllo 2</u>			
Media		2,3	2,3
SD		0,09	0,10
%CV		3,9	4,3
Fosfatasi alcalina (U/L)			
	n = 80		
<u>Controllo 1</u>			
Media		39	39
SD		1,81	2,29
%CV		4,6	5,9
<u>Controllo 2</u>			
Media		281	281
SD		4,08	8,75
%CV		1,5	3,1
Acidi biliari (µmol/L)			
	n = 40		
<u>Controllo 1</u>			
Media		24	24
SD		0,33	0,33
%CV		1,4	1,4

Tabella 3: Precisione (cont.)

Analita	Dimensioni del campione	Intra-sessione	Totale
<u>Controllo 2</u>			
Media		75	75
SD		1,03	1,33
%CV		1,4	1,8
Bilirubina totale (mg/dL)	n = 80		
<u>Controllo 1</u>			
Media		0,8	0,8
SD		0,06	0,07
%CV		7,5	8,8
<u>Controllo 2</u>			
Media		5,2	5,2
SD		0,09	0,15
%CV		1,7	2,9
Colesterolo totale (mg/dL)	n = 80		
<u>Controllo 1</u>			
Media		204	204
SD		6,64	6,84
%CV		3,3	3,4
<u>Controllo 2</u>			
Media		275	275
SD		6,46	8,00
%CV		2,3	2,9
Gamma glutamil transferasi (U/L)	n = 80		
<u>Controllo 1</u>			
Media		25	25
SD		0,59	0,74
%CV		2,3	2,9
<u>Controllo 2</u>			
Media		106	106
SD		1,52	2,29
%CV		1,4	2,2
Azoto ureico (mg/dL)	n = 120		
<u>Controllo 1</u>			
Media		19	19
SD		0,35	0,40
%CV		1,8	2,1
<u>Controllo 2</u>			
Media		65	65
SD		1,06	1,18
%CV		1,6	1,8

Correlazione

Studi sul campo sono stati condotti presso una clinica veterinaria universitaria. I campioni di siero sono analizzati con l'analizzatore chimico VetScan e un metodo comparativo. La Tabella 4 riporta i dati di correlazione rappresentativi.

Tabella 4: Correlazione tra l'analizzatore chimico VetScan e metodiche comparative

		Coefficiente di correlazione	Pendenza	Intercetta	Range campione
Alanino aminotransferasi (U/L)	Cani	1,00	0,95	0	10 – 1549
	Gatti	0,98	0,92	0	27 – 99
	Equini	0,97	0,94	6	11 – 30
Albumina (g/dL)	Cani	0,96	0,99	0,1	1,3 – 4,6
	Gatti	0,75	1,02	0	2,1 – 4,8
	Equini	0,89	0,99	-0,6	1,2 – 3,2
Fosfatasi alcalina (U/L)	Cani	1,00	0,89	-5	15 – 1722
	Gatti	0,97	0,81	1	6 – 54
	Equini	1,00	0,90	-4	119 – 1476
Acidi biliari ($\mu\text{mol/L}$)	Cani	1,00	0,96	1	0 – 125
	Gatti	1,00	1,09	-1	0 – 137
	Equini	*	*	*	*
Bilirubina totale (mg/dL)	Cani	0,87	0,84	0,1	0,1 – 3,2
	Gatti	1,00	0,92	-0,3	0,4 – 15,0
	Equini	1,00	0,90	0,1	0,6 – 26,1
Colesterolo totale (mg/dL)	Cani	0,99	0,99	6	103 – 450
	Gatti	0,99	1,06	-3	63 – 257
	Equini	*	*	*	*
Gamma glutamil transferasi (U/L)	Cani	1,00	0,96	2	5 – 65
	Gatti	*	*	*	*
	Equini	0,99	1,11	0	5 – 317
Azoto ureico (mg/dL)	Cani	1,00	0,98	-2	4 – 117
	Gatti	1,00	1,07	-5	14 – 165
	Equini	1,00	0,95	-1	3 – 64

* Non disponibile

Nota: Gli studi di correlazione per i cani hanno incluso n = 22 – 180 campioni; per i gatti hanno incluso n = 21 – 55 campioni e per i cavalli n = 7 – 101.

13. Bibliografia

1. Wróblewski F, LaDue. Serum glutamic-pyruvic transaminase in cardiac and hepatic disease. *Proc Soc Exp Biol Med* 1956; 91: 569-71.
2. Bergmeyer HU, Horder M. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 3. IFCC method for alanine aminotransferase. *J Clin Chem Clin Biochem* 1980;18: 521-34.
3. Webster D, et al. An assessment on the suitability of bromocresol green for the determination of serum albumin. *Clin Chim Acta* 1974; 53: 101-8.
4. Bowers GN, et al. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 1. General considerations concerning the determination of the catalytic concentration of an enzyme in the blood serum or plasma of man. *Clin Chim Acta* 1979; 98: 163F-74F.
5. Ohmori Y. Über die Phosphomomesterase. *Enzymologia* 1937; 4: 217-31.
6. Fujita H. Über die Mikrobestimung der Blutphosphatase. *J Biochem, Japan* 1937; 30: 69-87.
7. Petitclerc C, et al. Mechanism of action of Mg^{2+} and Zn^{2+} on rat placental alkaline phosphatase. I. Studies on the soluble Zn^{2+} and Mg^{2+} alkaline phosphatase. *Can J Biochem* 1975; 53: 1089-1100.
8. Tietz NW, et al. A reference method for measurement of alkaline phosphatase activity in human serum. *Clin Chem* 1983; 29: 751-61.
9. Malloy HT, Evelyn KA. The determination of bilirubin with the photoelectric colorimeter. *J Biol Chem* 1937; 119: 481-90.
10. Meites S. Bilirubin, directing reacting and total, modified Mally-Evelyn method. *In: Selected Methods of Clinical Chemistry*. Faulkner WR, Meites S, eds. Washington, DC: American Association for Clinical Chemistry. 1982: 119-24.
11. Murao S, Tanaka N. A new enzyme “bilirubin oxidase” produced by *Myrothecium verrucaria* MT-1. *Agric Biol Chem* 1981; 45: 2383-4.

12. Osaki S, Anderson S. Enzymatic determination of bilirubin. *Clin Chem* 1982; 30: 971 (Abstract).
13. Perry B, et al. Measurement of total bilirubin by use of bilirubin oxidase. *Clin Chem* 1986; 32: 329-32.
14. Kayamori, Y, et al. Endpoint colorimetric method for assaying total cholesterol in serum with cholesterol dehydrogenase. *Clin Chem* 1999; 45: 2158-2163.
15. Ball EG, Revel JP, Cooper O. The quantitative measurement of γ -glutamyl transpeptidase activity. *J Biol Chem* 1956; 221: 895-908.
16. Goldbarg JA, et al. The colorimetric determination of γ -glutamyl transpeptidase with a synthetic substrate. *Arch Biochem Biophys* 1960; 91: 61-70.
17. Orłowski M, Meister A. 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.
18. 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.
19. 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.
20. Sampson, 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.
21. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Procedures for handling and processing of blood specimens; approved guideline-2nd ed. NCCLS Document H18-A2. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
22. Sherwin JE and Obernolte R. Bilirubin. *In: Clinical Chemistry: Theory, Analysis and Correlation*, 2nd ed. Kaplan LA, Pesce AJ, eds. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 1009-1015.
23. Henry RJ, Canon DC, Winkelman. *Clinical Chemistry Principles and Technics*, 2nd ed. New York: Harper and Row; 1974; 417-21 & 127-8.
24. Leveille-Webster CR. Chapter 141. Laboratory diagnosis of hepatobiliary disease. *In: Textbook of Veterinary Internal Medicine*, Vol 2, 5th ed. Ettinger SJ, Feldman EC, eds. St. Louis: W.B. Saunders Company. 2000: 1288-1290.
25. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices; approved guideline. NCCLS Document EP5-A. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
26. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Quality management for unit-use testing; approved guideline. NCCLS Document EP18-A. Wayne, PA: NCCLS, 2002.