

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

January 2015
PN: 500-7134, Rev. F
© 2005, Abaxis, Inc., Union City, CA 94587

1. Intended Use

The VetScan® Critical Care Plus Reagent Rotor, used with the VetScan Chemistry Analyzer, is intended to be used for veterinary *in vitro* quantitative determination of alanine aminotransferase, chloride, creatinine, glucose, potassium, sodium, total carbon dioxide, and urea nitrogen in heparinized whole blood, heparinized plasma, or serum.

2. Summary and Explanation of Tests

The VetScan Critical Care Plus Reagent Rotor and the VetScan Chemistry Analyzer comprise an *in vitro* diagnostic system that aids the veterinarian in diagnosing the following disorders:

Alanine Aminotransferase	Liver diseases; including viral hepatitis and cirrhosis; heart diseases.
Chloride	Chronic diarrhea, chronic vomiting, renal disease, parathyroid disease, chronic respiratory acidosis or alkalosis, hyperadrenocorticism, hypoadrenocorticism, and thiazide therapy.
Creatinine	Renal disease and monitoring of renal dialysis.
Glucose	Carbohydrate metabolism disorders, including adult and juvenile diabetes mellitus and hypoglycemia.
Potassium	Renal glomerular or tubular disease, adrenocortical insufficiency, diabetic ketacidosis, excessive intravenous potassium therapy, sepsis, panhypopituitarism, <i>in vitro</i> hemolysis, hyperaldosteronism, malnutrition, hyperinsulinism, metabolic alkalosis and gastrointestinal loss.
Sodium	Dehydration, diabetes insipidus, loss of hypotonic gastrointestinal fluids, salt poisoning, selective depression of sense of thirst, skin losses, burns, sweating, hyperaldosteronism, CNS disorders, dilutional, depletional and delusional hyponatremia and syndrome of inappropriate ADH secretion.
Total Carbon Dioxide	Primary metabolic alkalosis and acidosis and primary respiratory alkalosis and acidosis.
Urea Nitrogen	Renal and metabolic diseases.

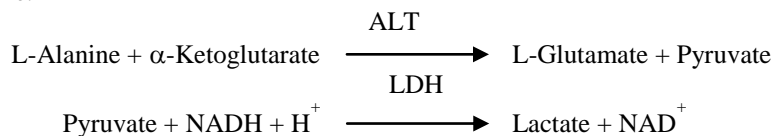
As with any diagnostic test procedure, all other test procedures including the clinical status of the patient, should be considered prior to final diagnosis.

3. Principle of Procedure

Alanine Aminotransferase (ALT)

Alanine aminotransferase (ALT) has been measured by three methods. Two of these methods—the colorimetric dinitrophenylhydrazine coupling technique^{1,2} and the fluorescent enzymatic assay—are rarely used.³ An enzymatic method based on the work of Wróblewski and LaDue⁴ is the most common technique for determining ALT concentrations in serum. A modified Wróblewski and LaDue procedure has been proposed as the recommended procedure of the International Federation of Clinical Chemistry (IFCC).⁵

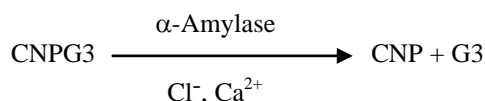
The method developed for use on the VetScan Analyzer is a modification of the IFCC-recommended procedure. In this reaction, ALT catalyzes the transfer of an amino group from L-alanine to α -ketoglutarate to form L-glutamate and pyruvate. Lactate dehydrogenase catalyzes the conversion of pyruvate to lactate. 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.

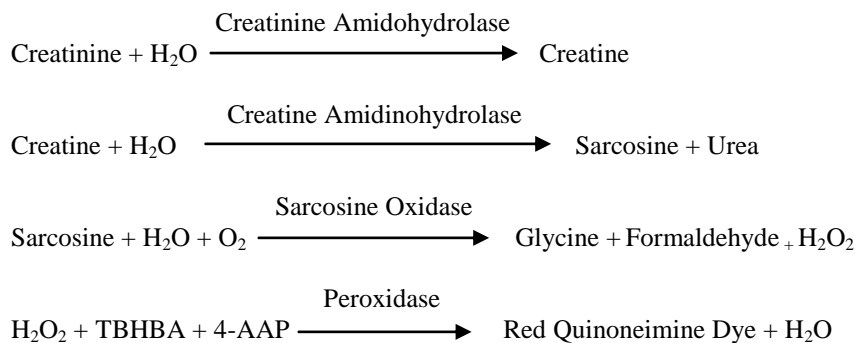
Chloride (Cl)

The method is based on the determination of chloride-dependent activation of α -amylase activity. Deactivated α -amylase is reactivated by addition of the chloride ion, allowing the calcium to re-associate with the enzyme. The reactivation of α -amylase activity is proportional to the concentration of chloride ions in the sample. The reactivated α -amylase converts the substrate, 2-chloro-*p*-nitrophenyl- α -D-maltotrioxide (CNPG3) to 2-chloro-*p*-nitrophenol (CNP) producing color and α -maltotriose (G3). The reaction is measured bichromatically and the increase in absorbance is directly proportional to the reactivated α -amylase activity and the concentration of chloride ion in the sample.⁶



Creatinine (CRE)

The Jaffe method, first introduced in 1886, is still a commonly used method of determining creatinine levels in blood. The current reference method combines the use of Fuller's earth (floridin) with the Jaffe technique to increase the specificity of the reaction.^{7,8} Enzymatic methods have been developed that are more specific for creatinine than the various modifications of the Jaffe technique.^{9,10,11} Methods using the enzyme creatinine amidohydrolase eliminate the problem of ammonium ion interference found in techniques using creatinine iminohydrolase.¹²

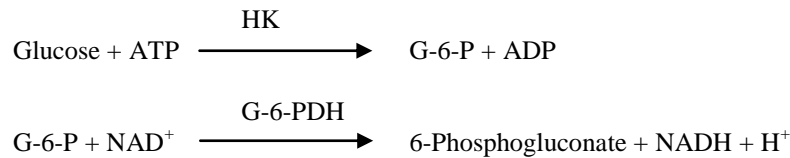


Two cuvettes are used to determine the concentration of creatinine in the sample. Endogenous creatine is measured in the blank cuvette, which is subtracted from the combined endogenous creatine and the creatine formed from the enzyme reactions in the test cuvette. Once the endogenous creatine is eliminated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

Glucose (GLU)

Measurements of glucose concentration were first performed using copper-reduction methods (such as Folin-Wu¹³ and Somogyi-Nelson^{14,15}). The lack of specificity in copper-reduction techniques led to the development of quantitative procedures using the enzymes hexokinase and glucose oxidase. The glucose test incorporated into the Critical Care Plus Reagent Rotor is a modified version of the hexokinase method, which has been proposed as the basis of the glucose reference method.¹⁶

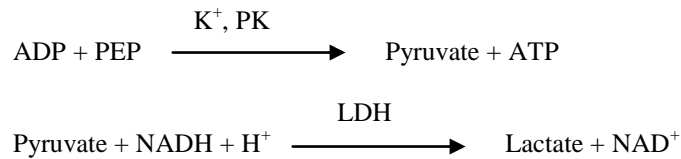
The reaction of glucose with adenosine triphosphate (ATP), catalyzed by hexokinase (HK), produces glucose-6-phosphate (G-6-P) and adenosine diphosphate (ADP). Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G-6-PDH) catalyzes the reaction of G-6-P into 6-phosphogluconate and the reduction of nicotinamide adenine dinucleotide (NAD^+) to NADH.



Potassium (K⁺)

Spectrophotometric methods have been developed that allow the measurement of potassium concentration on standard clinical chemistry instrumentation. An enzymatic method based on the activation of pyruvate kinase with potassium show excellent linearity and negligible susceptibility to endogenous substances.^{17, 18, 19} Interference from sodium and ammonium ion are minimized with the addition of Kryptofix and glutamine synthetase, respectively.¹⁷

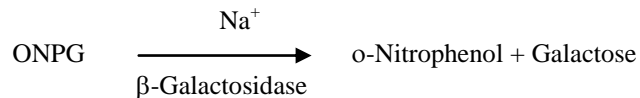
In the coupled-enzyme reaction, pyruvate kinase (PK) dephosphorylates phosphoenolpyruvate (PEP) to form pyruvate. Lactate dehydrogenase (LDH) catalyzes conversion of pyruvate to lactate. Concomitantly, NADH is oxidized to NAD⁺.



The rate of change in 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 potassium in the sample.

Sodium (Na⁺)

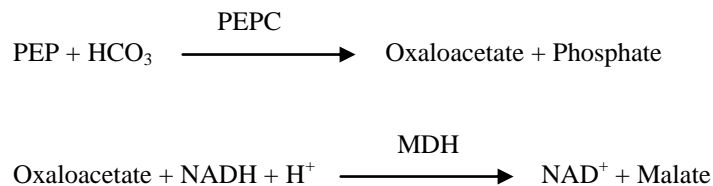
Colorimetric and enzymatic methods have been developed that allow the measurement of sodium concentration on standard clinical chemistry instrumentation.^{20, 21, 22} In the Abaxis enzymatic reaction, β-galactosidase is activated by the sodium in the sample. The activated enzyme catalyzes the reaction of o-nitrophenyl-β-D-galactopyranoside (ONPG) to o-nitrophenol and galactose.



Total Carbon Dioxide (tCO₂)

Total carbon dioxide in serum or plasma exists as dissolved carbon dioxide, carbamino derivatives of proteins, bicarbonate and carbonate ions and carbonic acid. Total carbon dioxide can be measured by pH indicator, CO₂ electrode and spectrophotometric enzymatic methods, which all produce accurate and precise results.^{23, 24} The enzymatic method is well suited for use on a routine blood chemistry analyzer without adding complexity.

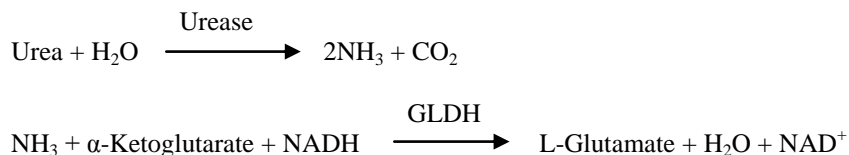
In the enzymatic method, the specimen is first made alkaline to convert all forms of carbon dioxide (CO₂) toward bicarbonate (HCO₃⁻). Phosphoenolpyruvate (PEP) and HCO₃⁻ then react to form oxaloacetate and phosphate in the presence of phosphoenolpyruvate carboxylase (PEPC). Malate dehydrogenase (MDH) catalyzes the reaction of oxaloacetate and reduced nicotinamide adenine dinucleotide (NADH) to NAD⁺ and malate. The rate of change in absorbance due to the conversion of NADH to NAD⁺ is directly proportional to the amount of tCO₂ in the sample.



Urea Nitrogen (BUN)

Urea can be measured both directly and indirectly. The diacetyl monoxime reaction, the only direct method to measure urea, is commonly used but employs dangerous reagents.²⁵ Indirect methods measure ammonia created from the urea; the use of the enzyme urease has increased the specificity of these tests.²⁶ The ammonia is quantitated by a variety of methods, including nesslerization (acid titration), the Berthelot technique^{27, 28} and coupled enzymatic reactions.^{29, 30} Catalyzed Berthelot procedures, however, are erratic when measuring ammonia.³¹ Coupled-enzyme reactions are rapid, have a high specificity for ammonia, and are commonly used. One such reaction has been proposed as a candidate reference method.³²

In the coupled-enzyme reaction, urease hydrolyzes urea into ammonia and carbon dioxide. Upon combining ammonia with α -ketoglutarate 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 Critical Care Plus Reagent Rotor contains dry test-specific reagent beads (described below). A dry sample blank reagent (comprised of buffer, surfactants, excipients, and preservatives) is included in each rotor for use in calculating concentrations of alanine aminotransferase (ALT), chloride, glucose, potassium, sodium, total carbon dioxide, and urea nitrogen. A dedicated sample blank is included in the rotor for creatinine (CRE). Each rotor also contains a diluent consisting of surfactants and preservatives.

Warnings and Precautions

- **For *In vitro* Diagnostic Use**
- The diluent container in the reagent rotor is automatically opened when the analyzer drawer closes. A rotor with an opened diluent container cannot be re-used. Ensure that the sample or control has been placed into the rotor before closing the drawer.
- Used reagent rotors contain animal body fluids. Follow good laboratory safety practices when handling and disposing of used rotors.³³ See the VetScan Chemistry Analyzer Operator's Manual for instructions on cleaning biohazardous spills.
- The reagent rotors are plastic and may crack or chip if dropped. **Never** use a dropped rotor as it may spray biohazardous material throughout the interior of the analyzer.
- 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.
- Samples with high amylase concentrations may give falsely elevated chloride readings.
- All reagents contained in the reagent rotor, when stored as described above, are stable until the expiration date printed on the rotor pouch. Do **not** use a rotor after the expiration date. The expiration date is also encoded in the bar code printed on the bar code ring. An error message will appear on the VetScan Whole Blood Analyzer display if the reagents have expired.

Instructions for Reagent Handling

Reagent rotors may be used directly from the refrigerator without warming. Do not allow rotors sealed in their foil pouches to remain at room temperature longer than 48 hours prior to use. Open the sealed foil pouch, remove the rotor and use according to the instructions provided in the VetScan Chemistry Analyzer Operator's Manual. **A rotor not used within 20 minutes of opening the pouch should be discarded.**

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). Reagent rotors may be used until the expiration date included on the package. 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/Deterioration

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 Chemistry Analyzer Operator's Manual for complete information on use of the analyzer.

7. Sample Collection and Preparation

Sample collection techniques are described in the "Sample Collection" section of the VetScan Chemistry Analyzer Operator's Manual.

- The minimum required sample size is ~100 µL of heparinized whole blood, heparinized plasma, serum or control material. The reagent rotor sample chamber can contain up to 120 µL of sample.
- Whole blood samples obtained by venipuncture must be homogeneous before transferring a sample to the reagent rotor. Gently invert the collection tube several times just prior to sample transfer. Do not shake the collection tube; shaking may cause hemolysis.
- Hemolysis may cause erroneously high results in potassium assays. This problem may go undetected when analyzing whole blood (release of potassium from as few as 0.5% of the erythrocytes can increase the potassium serum level by 0.5 mmol/L). In addition, even unhemolyzed specimens that are not promptly processed may have increased potassium levels due to intracellular potassium leakage.³⁴
- Whole blood venipuncture samples should be run within 60 minutes of collection.³⁵ **Glucose** concentrations are affected by the length of time since the patient has eaten and by the type of sample collected from the patient. To accurately determine glucose results, samples should be obtained from a patient who has been fasting for at least 12 hours. The glucose concentration decreases approximately 5-12 mg/dL in 1 hour in uncentrifuged samples stored at room temperature.³⁶
- Refrigerating whole blood samples can cause significant changes in concentrations of **creatinine** and **glucose**.³⁷ The sample may be separated into plasma or serum and stored in capped sample tubes at 2-8°C (36-46°F) if the sample cannot be run within 60 minutes.
- 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.
- Start the test within 10 minutes of transferring the sample into the reagent rotor.
- Samples with amylase concentrations >4000 U/L will give falsely high chloride readings.
- The concentration of total carbon dioxide is most accurately determined when the assay is done immediately after opening the tube and as promptly as possible after collection and processing of the blood in the unopened tube. Ambient air contains far less carbon dioxide than does plasma, and gaseous dissolved carbon dioxide will escape from the specimen into the air, with a consequent decrease in carbon dioxide value of up to 6 mmol/L in the course of 1 hour.³⁸

8. Procedure

Materials Provided

- One VetScan Critical Care Plus Reagent Rotor PN: 500-1042 (a box of 12 rotors PN: 500-0042-12)

Materials Required but not Provided

- VetScan Chemistry Analyzer

Test Parameters

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

Test Procedure

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

Calibration

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

Quality Control

Performance of the VetScan Chemistry Analyzer can be verified by running controls.

See the VetScan Chemistry Analyzer Operator's Manual, for a detailed discussion on running, recording, interpreting, and plotting control results.

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 Chemistry Analyzer Operator's Manual.

Interpretation of results is detailed in the Operator's Manual. Results are printed onto result cards supplied by Abaxis. The result cards have an adhesive backing for easy placement in the patient's files.

10. Limitations of Procedure

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

- The only anticoagulant **recommended for use** with the VetScan Chemistry System is **lithium heparin**. Abaxis has performed studies demonstrating that EDTA, fluoride, oxalate, and any anticoagulant containing ammonium ions will interfere with at least one chemistry contained in the VetScan Critical Care Plus Reagent Rotor.
- Samples with hematocrits in excess of 62% packed red cell volume may give inaccurate results. Samples with high hematocrits may be reported as hemolyzed. These samples may be spun down to get plasma then re-run in a new reagent rotor.
- **Any result for a particular test that exceeds the assay range should be analyzed by another approved test method or sent to a referral laboratory. Do not dilute the sample and run it again on the VetScan Chemistry Analyzer.**

Warning: Extensive testing of the VetScan Chemistry System 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 the reference ranges. The sample may be re-run using a new reagent rotor.

Interference

Substances were tested as interferents with the analytes. Human serum pools were prepared. The concentration at which each potential interferent was tested was based on the testing levels in NCCLS EP7-P.³⁹

Effects of Endogenous Substances

- Physiological interferents (hemolysis, icterus and lipemia) 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 System suppresses any results that are affected by >10% interference from hemolysis, lipemia or icterus. “HEM”, “LIP”, or “ICT” respectively, is printed on the result card in place of the result.
- Extremely elevated amylase levels (>9,000 U/L) will have a significant effect, >10% increase, on the chloride result. The concentration of amylase is not evaluated by the VetScan system for each specimen.
- The potassium assay in the VetScan system is a coupled pyruvate kinase (PK) / lactate dehydrogenase (LDH) assay. Therefore, in cases of extreme muscle trauma or highly elevated levels of creatine kinase (CK), the VetScan may recover a falsely elevated potassium (K⁺) value. In such cases, unexpected high potassium recoveries need to be confirmed utilizing a different methodology.

11. Expected Values

These reference ranges are provided as a guideline. The most definitive reference ranges are those established for the patient population. These results should be interpreted in conjunction with the patient’s clinical signs. Potassium and total protein levels determined in plasma may differ from the ranges given below.

Table 1: VetScan Reference Intervals

Analyte	Canine	Feline	Equine
Alanine AminoTransferase (ALT)	10 – 118 U/L	20 – 100 U/L	5 – 20 U/L
Chloride (CL ⁻)	106 – 120 mmol /L	112 – 126 mmol /L*	92 – 104 mmol /L
Creatinine (CRE)	0.3 – 1.4 mg/dL (27 – 124 µmol/L)	0.3 – 2.1 mg/dL (27 – 186 µmol/L)	0.6 – 2.2 mg/dL (53 – 194 µmol/L)
Glucose (GLU)	60 – 110 mg/dL (3.3 – 6.1 mmol/L)	70 – 150 mg/dL (3.9 – 8.3 mmol/L)	65 – 110 mg/dL (3.6 – 6.1 mmol/L)
Potassium (K ⁺)	3.7 – 5.8 mmol/L	3.7 – 5.8 mmol/L	2.5 – 5.2 mmol/L
Sodium (Na ⁺)	138 – 160 mmol/L	142 – 164 mmol/L	126 – 146 mmol/L
Total Carbon Dioxide (tCO ₂)	12 – 27 mmol/L	15 – 24 mmol/L	20 – 33 mmol/L
Urea Nitrogen (BUN)	7 – 25 mg/dL (2.0 – 9.0 mmol/urea/L)	10 – 30 mg/dL (4.0 – 11.0 mmol/urea/L)	7 – 25 mg/dL (2.0 – 9.0 mmol/urea/L)

*Feline reference interval is for adult cats only; kittens (cats younger than 6 months) may have lower chloride levels.

12. Performance Characteristics

Linearity

The chemistry for each analyte is linear over the dynamic range listed below when the VetScan Chemistry Analyzer is operated according to the recommended procedure (refer to the VetScan Chemistry Analyzer Operator’s Manual).

Table 2: VetScan Dynamic Ranges

Analyte	Common Units	SI Units
Alanine Aminotransferase	5 – 2000 U/L	5 – 2000 U/L
Chloride	80 – 135 mmol/L	80 – 135 mmol/L
Creatinine	0.2 – 20 mg/dL	18 – 1768 µmol/L
Glucose	10 – 700 mg/dL	0.56 – 38.9 mmol/L
Potassium	1.5 – 8.5 mmol/L	1.5 – 8.5 mmol/L
Sodium	110 – 170 mmol/L	110 – 170 mmol/L
Total Carbon Dioxide	5 – 40 mmol/L	5 – 40 mmol/L
Urea Nitrogen	2 – 180 mg/dL	0.7 – 64.3 mmol/urea/L

Sensitivity (Limits of Detection)

The lower limit of the reportable (dynamic) range for each analyte is: alanine aminotransferase 5 U/L; chloride 80 mmol/L; creatinine 0.2 mg/dL (18 µmol/L); glucose 10 mg/dL (0.56 mmol/L) potassium 1.5 mmol/L; sodium 110 mmol/L; total carbon dioxide 5 mmol/L and urea nitrogen 2.0mg/dL (0.7 mmol urea/L).

Precision

Precision studies were conducted using NCCLS (CLSI) EP5-A guidelines⁴⁰ with modifications based on NCCLS (CLSI) EP18-P⁴¹ for unit-use devices. Results for within-run and total precision were determined using two levels of commercially available control materials. The studies made use of multiple instruments and two reagent rotor lots. Calcium, creatinine, glucose, sodium and urea nitrogen testing was performed at one site; potassium and total carbon dioxide testing was performed at two sites over 20 days; chloride testing was done at two sites over a period of five days.

Results of precision studies are shown in Table 3.

Table 3: Precision

Analyte	Sample Size	Within-Run	Total
Alanine Aminotransferase (U/L)			
<u>Control 1</u>	N = 80		
Mean		21	21
SD		2.76	2.79
%CV		13.4	13.5
<u>Control 2</u>			
Mean		52	52
SD		2.7	3.25
%CV		5.2	6.2
Chloride (mmol/L)			
<u>Control 1</u>	N = 160		
Mean		97.8	97.8
SD		1.63	1.74
%CV		1.7	1.7
<u>Control 2</u>			
Mean		113.6	113.6
SD		1.97	2.22
%CV		1.7	2.0
Creatinine (mg/dL)			
<u>Control 1</u>	N=80		
Mean		1.1	1.1
SD		0.14	0.14
%CV		12.5	13.1
<u>Control 2</u>			
Mean		5.2	5.2
SD		0.23	0.27
%CV		4.4	5.2
Glucose (mg/dL)			
<u>Control 1</u>	N=80		
Mean		66	66
SD		0.76	1.03
%CV		1.1	1.6
<u>Control 2</u>			
Mean		278	278
SD		2.47	3.84
%CV		0.9	1.4

Table 3: Precision (continued)

Analyte	Sample Size	Within-Run	Total
Potassium (mmol/L)			
<u>Control 1</u>	N = 80		
Mean		6.7	6.7
SD		0.26	0.26
%CV		3.9	3.9
<u>Control 2</u>			
Mean		4.3	4.3
SD		0.22	0.22
%CV		5.1	5.1
Sodium (mmol/L)			
<u>Control 1</u>	N = 80		
Mean		148	148
SD		5.1	5.1
%CV		3.4	3.4
<u>Control 2</u>			
Mean		118	118
SD		3.2	3.2
%CV		2.7	2.7
Total Carbon Dioxide (mmol/L)			
<u>Control 1</u>	N = 80		
Mean		19	19
SD		1.39	1.39
%CV		7.3	7.3
<u>Control 2</u>			
Mean		9	9
SD		0.60	0.60
%CV		6.8	6.8
Urea Nitrogen (mg/dL)			
<u>Control 1</u>	N = 80		
Mean		19	19
SD		0.35	0.40
%CV		1.9	2.1
<u>Control 2</u>			
Mean		65	65
SD		1.06	1.18
%CV		1.6	1.8

Correlation

Heparinized whole blood and serum samples were collected and assayed on the VetScan Chemistry Analyzer and by a comparative method(s). The whole blood samples were analyzed by the VetScan Chemistry Analyzer at the field sites and the serum samples were analyzed by the VetScan Chemistry Analyzer and by comparative methods. In some cases, high and low supplemented samples were used to cover the dynamic range. The samples were chosen to meet the distribution values in NCCLS EP9-A guideline.⁴² Representative correlation statistics are shown in Table 4.

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

		Correlation Coefficient	Slope	Intercept	N	Sample Range
Alanine Aminotransferase (U/L)	Canine	1.00	0.95	0	22 – 180	10 – 1549
	Feline	0.98	0.92	0	21 – 55	27 – 99
	Equine	0.97	0.94	6	7 – 101	11 – 30
Chloride (mmol/L)	Canine	0.935	0.875	15	38	78 – 132
	Feline	0.979	0.882	12	20	86 – 123
	Equine	NA	NA	NA	NA	NA
Creatinine (mg/dL)	Canine	0.99	1.00	0.0	22 – 180	0.6 – 10.6
	Feline	1.00	1.01	-0.1	21 – 55	0.3 – 13.6
	Equine	0.95	1.00	-0.4	7 – 101	0.3 – 6.2
Glucose (mg/dL)	Canine	0.96	1.01	-6	22 – 180	28 – 348
	Feline	1.00	0.97	3	21 – 55	52 – 607
	Equine	0.97	0.94	16	7 – 101	36 – 353
Potassium (mmol/L)	Canine	0.96	0.92	0.4	22 – 180	3.2 – 6.9
	Feline	0.91	0.92	0.5	21 – 55	2.7 – 5.3
	Equine	0.84	0.97	0.1	7 – 101	1.8 – 4.6
Sodium (mmol/L)	Canine	0.89	0.97	4.8	22 – 180	118 – 183
	Feline	0.86	1.08	-12.2	21 – 55	122 – 166
	Equine	0.86	1.00	-0.01	7 – 101	110 – 166
Total Carbon Dioxide (mmol/L)	Canine	0.81	0.86	3.5	22 – 180	6 – 23
	Feline	0.93	0.90	2.4	21 – 55	7 – 31
	Equine	0.97	0.93	2.1	7 – 101	9 – 39
Urea Nitrogen (mg/dL)	Canine	1.00	0.98	-2	22 – 180	4 – 117
	Feline	1.00	1.07	-5	21 – 55	14 – 165
	Equine	1.00	0.95	-1	7 – 101	3 – 64

13. Bibliography

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

17. Berry MN, et al. Enzymatic determination of potassium in serum. *Clin Chem* 1989; 35: 817-820.
18. Van Pelt J. Enzymatic determination of sodium, potassium and chloride in serum compared with determination by flame photometry, coulometry and ion selective electrodes. *Clin Chem* 1994; 40: 846-847.
19. Hubl W, et al. Enzymatic determination of sodium, potassium and chloride in abnormal (hemolyzed, icteric, lipemic, paraproteinemic, or uremic) serum samples compared with indirect determination with ion selective electrodes. *Clin Chem* 1994; 40: 1528-1531.
20. Helgerson RC, et al. Host-guest Complexation. 50. Potassium and sodium ion-selective chromogenic ionophores. *J Amer Chem Soc* 1989; 111: 6339-6350.
21. Kumar A, et al. Chromogenic ionophere-based methods for spectrophotometric assay of sodium and potassium in serum and plasma. *Clin Chem* 1988; 34: 1709-1712.
22. Berry MN, et al. Enzymatic determination of sodium in serum. *Clin Chem* 1988; 34: 2295-2298.
23. Skeggs LT Jr. An automatic method for the determination of carbon dioxide in blood plasma. *Am J. Clin Pathol* 1960; 33: 181-185.
24. Korzun WJ, Miller WG. Carbon Dioxide. In: *Clinical chemistry theory, analysis and correlation*, 2nd ed. Kaplan LA, Pesce AJ, eds. St. Louis: The CV Mosby Company. 1989: 869-872.
25. Fales FW. Urea in serum, direct diacetyl monoxime method. In: *Selected Methods of Clinical Chemistry*, Vol 9. Faulkner WR, Meites S, eds. Washington, DC.: American Association for Clinical Chemistry. 1982: 365-373.
26. Van Slyke, et al. A permanent preparation of urease, and its use in the determination of urea. *J Biol Chem*, 1914; 19: 11-228.
27. Fawcett JK, et al. A rapid and Precise method for the determination of urea. *J Clin Pathol*, 1960; 13: 156-159.
28. Chaney, et al. Urea and ammonia determinations. *Clin Chem*, 1962; 8: 130-132.
29. Talke H, et al. Enzymatische harnstoffbestimmung in blut and serum im optischen Test nach Warburg. *Klin Wochensch*, 1965; 43: 174-175.
30. Hallett, et al. Reduced nicotinamide adenine dinucleotide-coupled reaction for emergency blood urea estimation. *Clin Chim Acta*, 1971; 35: 33-37.
31. Patton, et al. Spectrophotometric and kinetics investigation of the Berthelot reaction for the determination of ammonia. *Anal Chem*, 1977; 49: 464-469.
32. Sampson EJ, et al. A coupled-enzyme equilibrium method for the measuring urea in serum: optimization and evaluation of the AACC study group on Urea Candidate reference method. *Clin Chem*, 1980; 26: 816-826.
33. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Physician's office laboratory guidelines, tentative guideline, 2nd ed. NCCLS Document POL1-T2. Wayne, PA: NCCLS, 1992.
34. Scott MG. Electrolytes and Blood Gases. In: *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. 3rd ed. Burtis CA, Ashwood ER, eds. Philadelphia: WB Saunders Company. 1999: 1058-1059.
35. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Procedures for the handling and processing of blood specimens; tentative standard. NCCLS Document H18-A2. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
36. Overfield CV, et al. Glycolysis: a re-evaluation of the effect on blood glucose. *Clin Chim Acta* 1972; 39:35-40.
37. Rehak NN, Chiang BT. Storage of whole blood: effect of temperature on the measured concentration of analytes in serum. *Clin Chem* 1988; 34:2111-4.
38. Scott MG. Electrolytes and Blood Gases. In: *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. 3rd ed. Burtis CA, Ashwood ER, eds. Philadelphia: WB Saunders Company. 1999: 1065-1066.
39. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Interference testing in clinical chemistry; proposed guideline. NCCLS Document EP7-A. Wayne, PA: NCCLS, 2002.
40. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices; approved guideline. NCCLS Document EP5-A. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
41. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Quality management for unit-use testing; proposed guideline. NCCLS Document EP18-A. Wayne, PA: NCCLS, 2002.
42. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Method comparison and bias estimation using patient samples; approved guideline. NCCLS Document EP9-A2. Wayne, PA: NCCLS, 2002.

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

Januar 2015
Art.-Nr.: 500-7134, Rev. F
© 2005, Abaxis, Inc., Union City, CA 94587 USA

1. Verwendungszweck

Die VetScan®-Intensivmedizin-Plus-Reagenzdisk für das VetScan-Analysesystem dient zur veterinärmedizinischen quantitativen *In-vitro*-Bestimmung von Alanin-Aminotransferase, Chlorid, Creatinin, Glucose, Kalium, Natrium, Gesamtkohlendioxid und Harnstoff/Stickstoff in heparinisiertem Vollblut, heparinisierendem Plasma oder Serum.

2. Zusammenfassung und Erläuterung der Tests

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

Alanin-Aminotransferase	Leberkrankungen, einschließlich Virushepatitis und Zirrhose; Herzkrankheiten.
Chlorid	Chronische Diarrhoe, chronisches Erbrechen, Nierenerkrankungen, Nebenschilddrüsenerkrankungen, chronische respiratorische Azidose oder Alkalose, Hyperkortizismus, Hypokortizismus und Thiazidtherapie.
Creatinin	Nierenerkrankungen und Dialyseüberwachung.
Glucose	Störungen des Kohlenhydratstoffwechsels einschließlich <i>Diabetes mellitus</i> bei Erwachsenen und Jugendlichen sowie Hyperglykämie.
Kalium	Glomeruläre oder tubuläre Nierenerkrankungen, Nebennierenrindeninsuffizienz, diabetische Ketoazidose, übermäßige intravenöse Kaliumtherapie, Sepsis, Panhypopituitarismus, <i>In-vitro</i> -Hämolyse, Hyperaldosteronismus, Mangelernährung, Hyperinsulinismus, metabolische Alkalose und gastrointestinale Verluste.
Natrium	Dehydratation, <i>Diabetes insipidus</i> , Verlust hypotonischer Magen-Darm-Flüssigkeiten, Salzvergiftung, selektive Unterdrückung des Durstgefühls, Hautverluste, Verbrennungen, Schweißausbrüche, Hyperaldosteronismus, ZNS-Störungen, Verdünnungshyponatriämie, Verlusthyponatriämie und Wahnhyponatriämie sowie Syndrom der inadäquaten ADH-Sekretion.
Gesamtkohlendioxid	Primäre metabolische Alkalose und Azidose sowie primäre respiratorische Alkalose und Azidose.
Harnstoffstickstoff	Nierenerkrankungen und metabolische Erkrankungen.

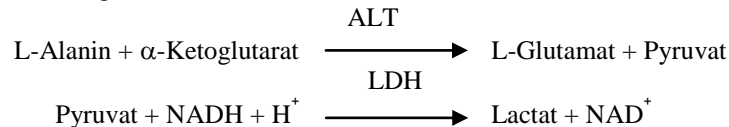
Wie bei allen diagnostischen Testverfahren sind vor der endgültigen Diagnose sämtliche anderen Testergebnisse sowie der klinische Zustand des Patienten zu berücksichtigen.

3. Verfahrensprinzip

Alanin-Aminotransferase (ALT)

Für die Bestimmung von Alanin-Aminotransferase (ALT) werden drei Methoden eingesetzt. Zwei dieser Methoden, die kolorimetrische Dinitro-phenylhydrazin-Kopplungstechnik^{1,2} und der enzymatische Fluoreszenzassay, kommen nur selten zum Einsatz.³ Eine auf der Arbeit von Wróblewski und LaDue⁴ basierende enzymatische Methode ist das gebräuchlichste Verfahren für die Bestimmung der ALT-Konzentrationen in Serum. Eine Abwandlung des Verfahrens von Wróblewski und LaDue wurde als empfohlenes Verfahren der International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) vorgeschlagen.⁵

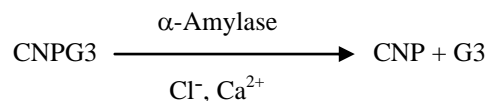
Die für das VetScan-Analysesystem entwickelte Methode ist eine Abwandlung des von der IFCC empfohlenen Verfahrens. Bei dieser Reaktion katalysiert ALT den Transfer einer Aminogruppe von L-Alanin zu α -Ketoglutarat und damit die Bildung von L-Glutamat und Pyruvat. Lactat-Dehydrogenase katalysiert die 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.

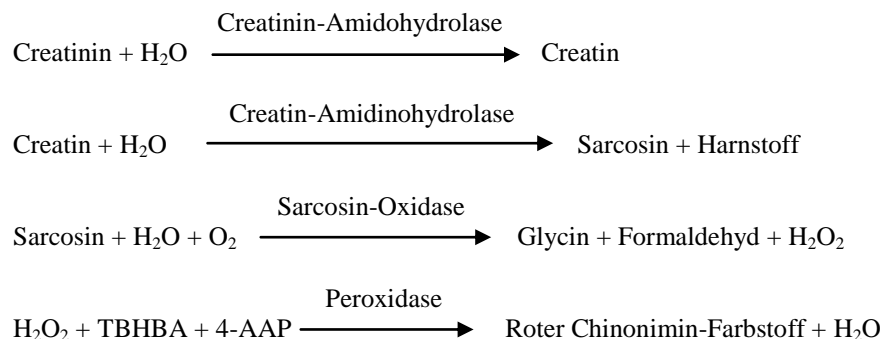
Chlorid (Cl)

Die Methode beruht auf der Bestimmung der chloridabhängigen Aktivierung von α -Amylase. Deaktivierte α -Amylase wird durch Zugabe des Chloridions reaktiviert und ermöglicht eine Reassoziierung von Calcium und Enzym. Die Reaktivierung von α -Amylaseaktivität ist proportional zur Konzentration der Chloridionen in der Probe. Die reaktivierte α -Amylase wandelt das Substrat, 2-Chlor-p-nitrophenyl- α -D-maltotriosid (CNPG3) in 2-Chlor-p-nitrophenol (CNP) um und produziert dabei Farbe sowie α -Maltotriose (G3). Die Reaktion wird bichromatisch gemessen und der Extinktionsanstieg ist direkt proportional zur reaktivierten α -Amylaseaktivität und der Chloridionen-Konzentration der Probe.⁶



Creatinin (CRE)

Die 1886 eingeführte Jaffe-Methode wird noch immer weithin zur Bestimmung der Creatinin-Spiegel im Blut eingesetzt. Die heutige Referenzmethode kombiniert den Einsatz von Fullererde (Floridin) mit der Jaffe-Technik, um eine Verbesserung der Reaktionsspezifität zu bewirken.^{7,8} Es wurden enzymatische Methoden entwickelt, die eine bessere Creatinin-Spezifität aufwiesen, als die verschiedenen Abwandlungen der Jaffe-Methode.^{9,10,11} Methoden mit dem Enzym Creatinin-Amidohydrolase eliminieren das Problem der Störungen durch Ammoniumionen, welches bei Verfahren mit Creatinin-Iminohydrolase auftritt.¹²

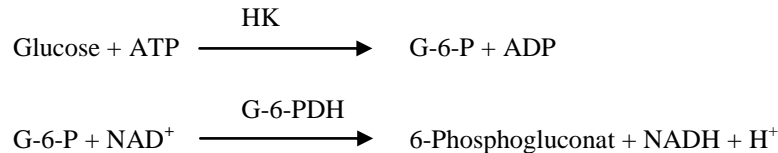


Die Creatinin-Konzentration in der Probe wird mit zwei Küvetten bestimmt. Das endogene Creatin wird in der Blindprobenküvette gemessen und von der Gesamtsumme aus endogenem Creatin und durch Enzymreaktionen in der Testküvette gebildetem Creatin subtrahiert. Wenn das endogene Creatin aus den Berechnungen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

Glucose (GLU)

Die ersten Bestimmungen der Glucose-Konzentration wurden mit Kupferreduktionsmethoden (bspw. nach Folin-Wu¹³ und Somogyi-Nelson^{14,15}) durchgeführt. Die mangelnde Spezifität der Kupferreduktionstechniken führte zur Entwicklung quantitativer Verfahren unter Verwendung der Enzyme Hexokinase und Glucose-Oxidase. Bei dem in der Intensivmedizin-Plus-Reagenzdisk integrierten Glucose-Test handelt es sich um eine Abwandlung der Hexokinase-Methode, die als Basis für die Glucose-Referenzmethode vorgeschlagen wurde.¹⁶

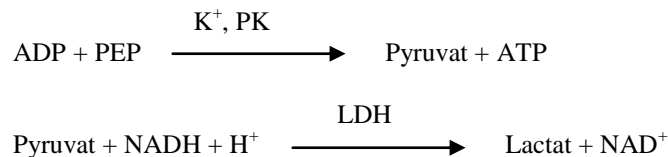
Die durch Hexokinase (HK) katalysierte Umsetzung von Glucose mit Adenosintriphosphat (ATP) erzeugt Glucose-6-Phosphat (G-6-P) und Adenosindiphosphat (ADP). Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase (G-6-PDH) katalysiert die Umsetzung von G-6-P zu 6-Phosphogluconat und die Reduktion von Nicotinamid-adenin-dinucleotid (NAD⁺) zu NADH.



Kalium (K⁺)

Es wurden spektralphotometrische Methoden entwickelt, die die Messung der Kaliumkonzentration mit Standardgeräten der klinischen Chemie ermöglichen. Eine auf der Aktivierung von Pyruvat-Kinase durch Kalium beruhende enzymatische Methode zeigt eine hervorragende Linearität und vernachlässigbare Anfälligkeit gegen endogene Substanzen.^{17,18,19} Störungen durch Natrium- und Ammoniumionen werden durch Zugabe von Kryptofix bzw. Glutamin-Synthetase minimiert.¹⁷

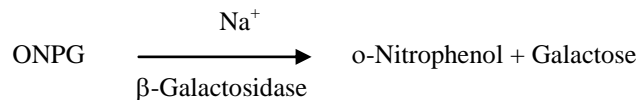
Bei der Reaktion mit gekoppelten Enzymen wird Phospho-enolpyruvat (PEP) durch Pyruvat-Kinase (PK) zu Pyruvat dephosphoryliert. Lactatdehydrogenase (LDH) katalysiert die Umwandlung von Pyruvat in Lactat. Damit einhergehend wird NADH zu NAD⁺ oxidiert.



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

Natrium (Na⁺)

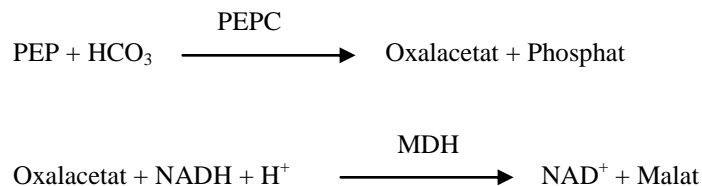
Es wurden kolorimetrische und enzymatische Methoden entwickelt, die die Bestimmung der Natriumkonzentration mit Standardgeräten der klinischen Chemie ermöglichen.^{23,21,22} Bei der Enzymreaktion von Abaxis wird β -Galactosidase durch das Natrium in der Probe aktiviert. Das aktivierte Enzym katalysiert die Umsetzung von o-Nitrophenyl- β -D-galactopyranosid (ONPG) zu o-Nitrophenol und Galactose.



Gesamtkohlendioxid (tCO₂)

Das Gesamtkohlendioxid im Serum oder Plasma ist als gelöstes Kohlendioxid, Carbaminoderivate von Proteinen, Bicarbonat und Carbonationen sowie Kohlensäure vorhanden. Gesamtkohlendioxid kann mit Hilfe von pH-Indikatoren, CO₂-Elektroden und spektralphotometrischen enzymatischen Methoden bestimmt werden, die ohne Ausnahme Ergebnisse hoher Genauigkeit und Präzision liefern.^{23,24} Die enzymatische Methode eignet sich gut für den routinemäßigen Einsatz an einem Blutchemieanalyzesystem, ohne das Verfahren komplizierter zu machen.

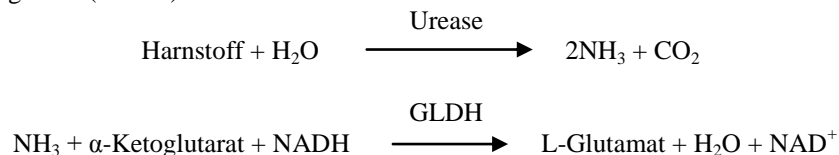
Bei der enzymatischen Methode wird die Probe zunächst alkalisch gestellt, um alle Formen von Kohlendioxid (CO₂) in Bicarbonat (HCO₃⁻) umzuwandeln. Phosphoenolpyruvat (PEP) und HCO₃⁻ reagieren dann miteinander und bilden in Gegenwart von Phosphoenolpyruvatcarboxylase (PEPC) Oxalacetat und Phosphat. Malatdehydrogenase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



Harnstoffstickstoff (BUN)

Harnstoff kann sowohl direkt als auch indirekt gemessen werden. Die Diacetylmonoxim-Reaktion, die einzige direkte Methode zur Bestimmung von Harnstoff, wird häufig angewendet, nutzt jedoch gefährliche Reagenzien.²⁵ Indirekte Methoden bestimmen den aus Harnstoff gebildeten Ammoniak; der Einsatz des Enzyms Urease erhöhte die Spezifität dieser Tests.²⁶ Der Ammoniak wird mit verschiedenen Methoden quantitativ bestimmt, darunter die Nesslerisierung (Säuretitrierung), die Berthelot-Methode^{27,28} und Reaktionen mit gekoppelten Enzymen.^{29,30} Katalysierte Berthelot-Verfahren erweisen sich bei Ammoniak-Bestimmungen jedoch als unzuverlässig.³¹ Reaktionen mit gekoppelten Enzymen sind schnell, haben eine hohe Spezifität für Ammoniak und werden allgemein eingesetzt. Eine derartige Reaktion wurde als mögliche Referenzmethode vorgeschlagen.³²

Bei der Reaktion mit gekoppelten Enzymen hydrolysiert Urease den Harnstoff zu Ammoniak und Kohlendioxid. Nach der Zusammenführung von Ammoniak mit α -Ketoglutarat 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-Intensivmedizin-Plus-Chlorid-Reagenzdisk umfasst trockene, testspezifische Reagenzien-Beads (Beschreibung folgt). Jede Disk enthält ein trockenes Blindprobenreagenz (bestehend aus Puffer, Tensiden, Hilfsstoffen und Konservierungsmitteln) für die Berechnung der Konzentrationen an Alanin-Aminotransferase (ALT), Chlorid, Glucose, Kalium, Natrium, Gesamtkohlendioxid und Harnstoffstickstoff. Für Creatinin (CRE) enthält die Disk einen spezifischen Probenblindwert. Jede Disk enthält außerdem ein aus Tensiden und Konservierungsmitteln bestehendes Verdünnungsmittel.

Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

- **Für die *In-vitro*-Diagnostik**
- Der Verdünnungsmittelbehälter in der Reagenzdisk wird beim Schließen des Schubfachs des Analysesystems automatisch geöffnet. Disks mit geöffneten Verdünnungsmittelbehältern können nicht wieder verwendet werden. Vor dem Schließen des Schubfachs prüfen, ob die Probe bzw. Kontrolle in die Disk eingesetzt wurde.
- Gebrauchte Reagenzdisks enthalten tierische Körperflüssigkeiten. Bei der Handhabung und Entsorgung von gebrauchten Disks die Arbeitsschutzbestimmungen der guten Laborpraxis einhalten.³³ Anweisungen zum Aufnehmen von verschütteten biologischen Gefahrenstoffen enthält das Bedienungshandbuch für das VetScan-Analysesystem.
- Die Reagenzdisks bestehen aus Kunststoff und können durch Fallenlassen Risse erhalten oder splintern. Heruntergefallene Disks **niemals** verwenden, da diese biologische Gefahrenstoffe im Innern des Analysesystems versprühen können.

- Reagenzien-Beads können Säuren oder Basen enthalten. Bei Einhaltung der empfohlenen Verfahrensweisen kommt der Bediener nicht mit den Reagenzien-Beads in Berührung. Beim Umgang mit Beads (z. B. bei Reinigungsmaßnahmen nach dem Fallenlassen und Zerschneiden einer Reagenzdisk) Verschlucken, Hautkontakt oder Einatmen der Reagenzien-Beads vermeiden.
- Bei Proben mit hohen Amylase-Konzentrationen können die Chlorid-Messwerte fälschlicherweise erhöht sein.
- Alle in der Reagenzdisk enthaltenen Reagenzien bleiben bei den oben beschriebenen Lagerbedingungen bis zu dem auf dem Diskbeutel aufgedruckten Verfallsdatum stabil. Die Disks nach dem Verfallsdatum **nicht** mehr verwenden. Das Verfallsdatum ist auch in dem auf dem Barcode-Ring aufgedruckten Barcode enthalten. Bei Überschreitung des Verfallsdatums der Reagenzien erscheint auf der Anzeige des VetScan-Vollblut-Analysesystems eine Fehlermeldung.

Anweisungen zum Umgang mit Reagenzien

Reagenzdisks sind ohne Erwärmen sofort aus dem Kühlschrank heraus verwendbar. Die in ihren Folienbeuteln verschlossenen Disks vor Gebrauch maximal 48 Stunden lang bei Raumtemperatur aufbewahren. Den versiegelten Folienbeutel öffnen, die Disk entnehmen und gemäß den Anweisungen des Bedienungshandbuchs für das VetScan-Analysesystem verwenden. **Nicht innerhalb von 20 Minuten nach Öffnen des Beutels verwendete Disks sind zu entsorgen.**

Lagerung

Die in ihren Beuteln eingeschweißten Reagenzdisks bei 2–8 °C (36–46 °F) lagern. Geöffnete oder ungeöffnete Disks vor direkter Sonneneinstrahlung und Temperaturen von über 32 °C (90 °F) schützen. Reagenzdisks können bis zu dem auf der Packung angegebenen Verfallsdatum verwendet werden. 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

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-Analysesystem.

7. Probennahme und -vorbereitung

Probennahmeverfahren sind im Probennahme-Abschnitt des Bedienungshandbuchs für das VetScan-Analysesystem beschrieben.

- Die erforderliche Mindestprobenmenge ist ~100 µL heparinisieretes Vollblut, heparinisieretes Plasma, Serum oder Kontrollmaterial. Die Probenkammer der Reagenzdisk kann eine Probenmenge von bis zu 120 µl aufnehmen.
- Durch Venenpunktion erhaltene Vollblutproben müssen homogen sein, bevor die Probe in die Reagenzdisk transferiert wird. Das Sammelröhrchen unmittelbar vor dem Probentransfer mehrere Male vorsichtig über Kopf drehen. Das Sammelröhrchen nicht schütteln, da es sonst zur Hämolyse kommen kann.
- Hämolyse kann bei Kalium-Assays zu fälschlicherweise erhöhten Ergebnissen führen. Bei der Analyse von Vollblutproben wird dieses Problem möglicherweise nicht erkannt (die Freisetzung von Kalium aus lediglich 0,5 % der Erythrozyten kann zur Erhöhung des Kalium-Serumspiegels um 0,5 mmol/l führen). Außerdem können selbst nicht hämolytische Proben, die nicht unverzüglich bearbeitet werden, auf Grund von intrazellulärem Kaliumaustritt erhöhte Kalium-Konzentrationen aufweisen.³⁴
- Durch Venenpunktion erhaltene Vollblutproben sind innerhalb von 60 Minuten nach der Entnahme zu analysieren.³⁵ Die **Glucose**-Spiegel werden durch die Zeitdauer seit der letzten Nahrungsaufnahme des Patienten sowie auch durch den entnommenen Probentyp beeinflusst. Zur genauen Bestimmung der Glucoseergebnisse sind die Proben von einem Patienten zu nehmen, der mindestens 12 Stunden keine Nahrung zu sich genommen hat. Die Glucose-Konzentration nimmt in nicht zentrifugierten, bei Raumtemperatur gelagerten Proben um etwa 5–12 mg/dl pro Stunde ab.³⁶
- Das Kühlen von Vollblutproben kann zu erheblichen Veränderungen der **Creatinin**- und **Glucose**-Spiegel führen.³⁷ Falls die Probenanalyse nicht innerhalb 60 Minuten durchgeführt werden kann, kann die Probe in Plasma bzw. Serum aufgetrennt und in geschlossenen Probenröhrchen bei 2–8 °C (36–46 °F) aufbewahrt werden.

- 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.
- Den Test innerhalb von 10 Minuten nach dem Probentransfer in die Reagenzdisk beginnen.
- Proben mit Amylase-Konzentrationen von >4000 E/l ergeben fälschlicherweise erhöhte Chlorid-Messwerte.
- Die Konzentration an Gesamtkohlendioxid lässt sich am genauesten bestimmen, wenn der Assay unmittelbar nach dem Öffnen des Röhrchens und so schnell wie möglich nach der Entnahme und Bearbeitung des Blutes im ungeöffneten Röhrchen erfolgt. Die Umgebungsluft enthält weit weniger Kohlendioxid als Plasma, und gasförmiges gelöstes Kohlendioxid entweicht aus der Probe in die Luft, wodurch sich der Kohlendioxidwert binnen einer Stunde um bis zu 6 mmol/l verringert.³⁸

8. Verfahren

Lieferumfang

- Eine VetScan-Intensivmedizin-Plus-Reagenzdisk, Art.-Nr.: 500-1042 (ein Karton mit 12 Disks, Art.-Nr.: 500-0042-12)

Benötigte Materialien, die nicht zum Lieferumfang gehören

- VetScan-Analysesystem

Testparameter

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

Testverfahren

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

Kalibrierung

Das VetScan-Analysesystem wird vor dem Versand vom Hersteller kalibriert. Der auf dem Barcoding aufgedruckte Barcode enthält die diskspezifischen Kalibrierungsdaten für das Analysesystem. Siehe das Bedienungshandbuch für das VetScan-Analysesystem.

Qualitätskontrolle

Die Leistung des VetScan-Analysesystems kann durch die Analyse von Kontrollen überprüft werden.

Ausführliche Erläuterungen zur Analyse, Aufzeichnung, Interpretation und grafischen Darstellung von Kontrollergebnissen enthält das Bedienungshandbuch für das VetScan-Analysesystem.

9. Ergebnisse

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

Die Interpretation der Ergebnisse ist im Bedienhandbuch eingehend dargestellt. Die Ergebnisse werden auf von Abaxis gelieferten Ergebniskarten gedruckt. Die Ergebniskarten haben rückseitig eine Klebeschicht zur einfachen Anbringung in der Patientenakte.

10. Verfahrensgrenzen

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

- Das einzige zur Verwendung mit dem VetScan-Analysesystem **empfohlene** Antikoagulans ist **Lithium-Heparin**. Abaxis hat in Studien demonstriert, dass EDTA, Fluorid, Oxalat und Ammoniumionen enthaltende Antikoagulantien mindestens eine der Methoden der VetScan-Intensivmedizin-Plus-Reagenzdisk stören.
- Proben, deren Hämatokrit ein Erythrozytenkonzentratvolumen von über 62 % umfasst, können ungenaue Ergebnisse erbringen. Solche Proben mit hohen Hämatokritwerten können als hämolytisch berichtet werden. Deartige Proben können zum Erhalt von Plasma zentrifugiert und in einer neuen Reagenzdisk erneut analysiert werden.
- **Jedes den Assaybereich überschreitende Ergebnis eines bestimmten Tests sollte mit einem anderen zugelassenen Testverfahren analysiert oder an ein Referenzlabor geschickt werden. Die Probe nicht verdünnen und erneut im VetScan-Analysesystem testen.**

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 irregulären Flusses kann eine unzureichende Probenmenge analysiert werden, und mehrere Ergebnisse können außerhalb des Referenzbereichs fallen. Die Probe kann mit einer neuen Reagenzdisk erneut analysiert werden.

Störsubstanzen

Es wurden Substanzen als mögliche Störsubstanzen mit den Analyten getestet. Dann wurden Humanserum-Pools hergestellt. Die Konzentration zum Testen einer potenziellen Störsubstanz beruht auf den Testspiegeln von NCCLS EP7-P.³⁹

Auswirkungen endogener Substanzen

- Physiologische Interferenzen (Hämolyse, Ikterus und Lipämie) verursachen Veränderungen in den gemeldeten Konzentrationen mancher Analyten. 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.
- Extrem erhöhte Amylasespiegel (>9.000 U/L) haben einen signifikanten Effekt auf das Chloridergebnis (mehr als 10 % Erhöhung). Die Amylase-Konzentration wird vom VetScan-System nicht für jede Probe untersucht.
- Der Kalium-Assay des VetScan-Systems ist ein gekoppelter Pyruvatkinase- (PK) / Laktatdehydrogenase- (LDH) Assay. Bei extremem Muskeltrauma oder stark erhöhten Creatinkinasewerten (CK) kann VetScan daher fälschlich erhöhte Kaliumwerte (K⁺) messen. In diesen Fällen sind unerwartet hohe Kaliumwerte mit einer anderen Methode zu bestätigen.

11. Erwartete Werte

Diese Referenzbereiche werden als Richtlinie bereitgestellt. Am definitivsten sind die für die jeweilige Patientenpopulation ermittelten Referenzbereiche. Diese Ergebnisse sind in Verbindung mit den klinischen Anzeichen des Patienten zu interpretieren. Die aus Plasma bestimmten Kalium- und Gesamtprotein-Spiegel entsprechen evtl. nicht den im Folgenden aufgeführten Bereichen.

Tabelle 1: VetScan-Referenzbereiche

Analyt	Hunde	Katzen	Pferde
Alanin-Aminotransferase (ALT)	10–118 E/l	20–100 E/l	5–20 E/l
Chlorid (CL⁻)	106–120 mmol/l	112–126 mmol/l*	92–104 mmol/l
Creatinin (CRE)	0,3–1,4 mg/dl (27–124 µmol/l)	0,3–2,1 mg/dl (27–186 µmol/l)	0,6–2,2 mg/dl (53–194 µmol/l)
Glucose (GLU)	60–110 mg/dl (3,3–6,1 mmol/l)	70–150 mg/dl (3,9–8,3 mmol/l)	65–110 mg/dl (3,6–6,1 mmol/l)
Kalium (K⁺)	3,7–5,8 mmol/l	3,7–5,8 mmol/l	2,5–5,2 mmol/l
Natrium (Na⁺)	138–160 mmol/l	142–164 mmol/l	126–146 mmol/l
Gesamtkohlendioxid (tCO₂)	12–27 mmol/l	15–24 mmol/l	20–33 mmol/l
Harnstoffstickstoff (BUN)	7–25 mg/dl (2,0–9,0 mmol/Harnstoff/l)	10–30 mg/dl (4,0–11,0 mmol/Harnstoff/l)	7–25 mg/dl (2,0–9,0 mmol/Harnstoff/l)

*Die Referenzbereiche für Katzen gelten nur für ausgewachsene Katzen; Kätzchen (Katzen unter 6 Monaten) können niedrigere Chlorid-Spiegel aufweisen.

12. Leistungsmerkmale

Linearität

Die Methodenkurve der einzelnen Analyten verläuft in dem hier präsentierten dynamischen Bereich linear, wenn das VetScan-Analysesystem empfehlungsgemäß betrieben wird (siehe das Bedienungshandbuch für das VetScan-Analysesystem).

Tabelle 2: Dynamische Bereiche des VetScan-Systems

Analyt	Gebräuchliche Einheiten	SI-Einheiten
Alanin-Aminotransferase	5–2000 E/l	5–2000 E/l
Chlorid	80–135 mmol/l	80–135 mmol/l
Creatinin	0,2–20 mg/dl	18–1768 µmol/l
Glucose	10–700 mg/dl	0,56–38,9 mmol/l
Kalium	1,5–8,5 mmol/l	1,5–8,5 mmol/l
Natrium	110–170 mmol/l	110–170 mmol/l
Gesamtkohlendioxid	5–40 mmol/l	5–40 mmol/l
Harnstoffstickstoff	2–180 mg/dl	0,7–64,3 mmol/Harnstoff/l

Empfindlichkeit (Nachweisgrenzen)

Die untere Grenze des Ergebnisbereichs (dynamischer Bereich) für jeden Analyten ist: Alanin-Aminotransferase 5 E/l; Chlorid 80 mmol/l; Creatinin 0,2 mg/dl (18 µmol/l); Glucose 10 mg/dl (0,56 mmol/l); Kalium 1,5 mmol/l; Natrium 110 mmol/l; Gesamtkohlendioxid 5 mmol/l und Harnstoffstickstoff 2,0 mg/dl (0,7 mmol Harnstoff/l).

Präzision

Es wurden Präzisionsstudien durchgeführt, die den NCCLS-Richtlinien EP5-A⁴⁰ entsprachen (mit Änderungen gemäß NCCLS EP18-P⁴¹ für am Behandlungsort eingesetzte Geräte). Die Ergebnisse wurden mit zwei Stufen von handelsüblichen Kontrollmaterialien für die Wiederholpräzision und die Gesamtpräzision ermittelt. Bei den Studien kamen mehrere Geräte und zwei Reagenzdisk-Chargen zum Einsatz. Die Tests für Calcium, Creatinin, Glucose, Natrium und Harnstoffstickstoff wurden an einem Standort durchgeführt, Tests für Kalium und Gesamtkohlendioxid an zwei Standorten über 20 Tage hinweg; Tests für Chlorid wurden an zwei Standorten über einen Zeitraum von fünf Tagen hinweg durchgeführt.

Die Ergebnisse der Präzisionsstudien sind in Tabelle 3 dargestellt.

Tabelle 3: Präzision

Analyt	Probenumfang	Innerhalb eines Laufs	Gesamt
Alanin-Aminotransferase (E/l)			
<u>Kontrolle 1</u>	N = 80		
Mittelwert		21	21
SA		2,76	2,79
% VK		13,4	13,5
<u>Kontrolle 2</u>			
Mittelwert		52	52
SA		2,7	3,25
% VK		5,2	6,2
Chlorid (mmol/l)			
<u>Kontrolle 1</u>	N = 160		
Mittelwert		97,8	97,8
SA		1,63	1,74
% VK		1,7	1,7
<u>Kontrolle 2</u>			
Mittelwert		113,6	113,6
SA		1,97	2,22
% VK		1,7	2,0

Tabelle 3: Präzision (Fortsetzung)

Analyt	Probenumfang	Innerhalb eines Laufs	Gesamt
Creatinin (mg/dl)			
<u>Kontrolle 1</u>	N=80		
Mittelwert		1,1	1,1
SA		0,14	0,14
% VK		12,5	13,1
<u>Kontrolle 2</u>			
Mittelwert		5,2	5,2
SA		0,23	0,27
% VK		4,4	5,2
Glucose (mg/dl)			
<u>Kontrolle 1</u>	N=80		
Mittelwert		66	66
SA		0,76	1,03
% VK		1,1	1,6
<u>Kontrolle 2</u>			
Mittelwert		278	278
SA		2,47	3,84
% VK		0,9	1,4
Kalium (mmol/l)			
<u>Kontrolle 1</u>	N = 80		
Mittelwert		6,7	6,7
SA		0,26	0,26
% VK		3,9	3,9
<u>Kontrolle 2</u>			
Mittelwert		4,3	4,3
SA		0,22	0,22
% VK		5,1	5,1
Natrium (mmol/l)			
<u>Kontrolle 1</u>	N = 80		
Mittelwert		148	148
SA		5,1	5,1
% VK		3,4	3,4
<u>Kontrolle 2</u>			
Mittelwert		118	118
SA		3,2	3,2
% VK		2,7	2,7
Gesamtkohlendioxid (mmol/l)			
<u>Kontrolle 1</u>	N = 80		
Mittelwert		19	19
SA		1,39	1,39
% VK		7,3	7,3
<u>Kontrolle 2</u>			
Mittelwert		9	9
SA		0,60	0,60
% VK		6,8	6,8

Tabelle 3: Präzision (Fortsetzung)

Analyt	Probenumfang	Innerhalb eines Laufs	Gesamt
Harnstoffstickstoff (mg/dl)			
<u>Kontrolle 1</u>		N = 80	
Mittelwert		19	19
SA		0,35	0,40
% VK		1,9	2,1
<u>Kontrolle 2</u>			
Mittelwert		65	65
SA		1,06	1,18
% VK		1,6	1,8

Korrelation

Es wurden heparinisierte Vollblut- und Serumproben entnommen und im VetScan-Analysesystem sowie mit einer Vergleichsmethode (mit Vergleichsmethoden) analysiert. Die Vollblutproben wurden vor Ort im VetScan-Analysesystem analysiert, und die Serumproben wurden im VetScan-Analysesystem und mit Vergleichsmethoden analysiert. In einigen Fällen wurden hohe und niedrige Ergänzungsproben zur Abdeckung des dynamischen Bereichs verwendet. Die Proben wurden unter Einhaltung der Verteilungswerte der NCCLS-Richtlinie EP9-A ausgewählt.⁴² Repräsentative Korrelationsstatistiken sind in Tabelle 4 aufgeführt.

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

		Korrelations- koeffizient	Steigung	Schnittpunkt	N	Proben- bereich
Alanin- Aminotransferase (E/l)	Hunde	1,00	0,95	0	22–180	10–1549
	Katzen	0,98	0,92	0	21–55	27–99
	Pferde	0,97	0,94	6	7–101	11–30
Chlorid (mmol/l)	Hunde	0,935	0,875	15	38	78–132
	Katzen	0,979	0,882	12	20	86–123
	Pferde	N/V	N/V	N/V	N/V	N/V
Creatinin (mg/dl)	Hunde	0,99	1,00	0,0	22–180	0,6–10,6
	Katzen	1,00	1,01	-0,1	21–55	0,3–13,6
	Pferde	0,95	1,00	-0,4	7–101	0,3–6,2
Glucose (mg/dl)	Hunde	0,96	1,01	-6	22–180	28–348
	Katzen	1,00	0,97	3	21–55	52–607
	Pferde	0,97	0,94	16	7–101	36–353
Kalium (mmol/l)	Hunde	0,96	0,92	0,4	22–180	3,2–6,9
	Katzen	0,91	0,92	0,5	21–55	2,7–5,3
	Pferde	0,84	0,97	0,1	7–101	1,8–4,6
Natrium (mmol/l)	Hunde	0,89	0,97	4,8	22–180	118–183
	Katzen	0,86	1,08	-12,2	21–55	122–166
	Pferde	0,86	1,00	-0,01	7–101	110–166
Gesamtkohlen- dioxid (mmol/l)	Hunde	0,81	0,86	3,5	22–180	6–23
	Katzen	0,93	0,90	2,4	21–55	7–31
	Pferde	0,97	0,93	2,1	7–101	9–39
Harnstoffstickstoff (mg/dl)	Hunde	1,00	0,98	-2	22–180	4–117
	Katzen	1,00	1,07	-5	21–55	14–165
	Pferde	1,00	0,95	-1	7–101	3–64

13. Literaturverzeichnis

1. Tonhazy NE, White NG, Umbreit WW. A rapid method for the estimation of the glutamic-aspartic transaminase in tissues and its application to radiation sickness. *Arch Biochem* 1950; 28: 36-42.
2. Reitman S, Frankel S. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases. *Am J Clin Pathol* 1957; 28: 56-63.
3. Murray RL. Alanine aminotransferase. In: *Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation*, 2nd ed. Kaplan LA, Pesce AP, eds. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 895-898.
4. Wróblewski F, LaDue JS. Serum glutamic-pyruvic transaminase in cardiac and hepatic disease. *Proc Soc Exp Biol Med* 1956; 91: 569-571.
5. Bergmeyer HU, M Horder. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 3. IFCC method for alanine aminotransferase. *J Clin Chem Clin Biochem* 1980; 18: 521-534.
6. Ono T, et al. A new enzymatic assay of chloride in serum. *Clin Chem* 1988; 34: 552-553.
7. Knoll VE, et al. Spezifische kreatininbestimmung im serum. *Z Klin Chemi Clin Biochem*. 1970; 8: 582-587.
8. Haeckel R, et al. Simplified determinations of the "true" creatinine concentration in serum and urine. *J Clin Chem Clin Biochem*. 1980; 18: 385-394.
9. Moss GA, et al. Kinetic enzymatic method for determining serum creatinine. 1975; 21: 1422-1426.
10. Jaynes PK, et al. An enzymatic, reaction-rate assay for serum creatinine with a centrifugal analyzer. 1982; 28: 114-117.
11. Fossati P, et al. Enzymatic creatinine assay: a new colorimetric method based on hydrogen peroxide measurement. 1983; 29: 1494-1496.
12. Whelton A, et al. Nitrogen metabolites and renal function. In: *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 2nd Ed. Burtis CA, Ashwood ER, eds. Philadelphia: W.B. Saunders Company. 1994: 1513-1575.
13. Folin O, et al. A system of blood analysis. *J Biol Chem*. 1919; 38: 81-110.
14. Somogyi M. A reagent for the copper-iodometric determination of very small amounts of sugar. *J Biol Chem*. 1937; 117: 771-776.
15. Nelson N, et al. A photometric adaption of the Somogyi method for the determination of glucose. *J Biol*. 1944; 153: 375-380.
16. Kaplan LA. Glucose. In: *Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation*, 2nd ed. Kaplan LA, AJ Pesce AJ, eds. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 850-856.
17. Berry MN, et al. Enzymatic determination of potassium in serum. *Clin Chem* 1989; 35: 817-820.
18. Van Pelt J. Enzymatic determination of sodium, potassium and chloride in serum compared with determination by flame photometry, coulometry and ion selective electrodes. *Clin Chem* 1994; 40: 846-847.
19. Hubl W, et al. Enzymatic determination of sodium, potassium and chloride in abnormal (hemolyzed, icteric, lipemic, paraproteinemic, or uremic) serum samples compared with indirect determination with ion selective electrodes. *Clin Chem* 1994; 40: 1528-1531.
20. Helgerson RC, et al. Host-guest Complexation. 50. Potassium and sodium ion-selective chromogenic ionophores. *J Amer Chem Soc* 1989; 111: 6339-6350.
21. Kumar A, et al. Chromogenic ionophore-based methods for spectrophotometric assay of sodium and potassium in serum and plasma. *Clin Chem* 1988; 34: 1709-1712.
22. Berry MN, et al. Enzymatic determination of sodium in serum. *Clin Chem* 1988; 34: 2295-2298.
23. Skeggs LT Jr. An automatic method for the determination of carbon dioxide in blood plasma. *Am J. Clin Pathol* 1960; 33: 181-185.
24. Korzun WJ, Miller WG. Carbon Dioxide. In: *Clinical chemistry theory, analysis and correlation*, 2nd ed. Kaplan LA, Pesce AJ, eds. St. Louis: The CV Mosby Company. 1989: 869-872.
25. Fales FW. Urea in serum, direct diacetyl monoxime method. In: *Selected Methods of Clinical Chemistry*, Vol 9. Faulkner WR, Meites S, eds. Washington, DC.: American Association for Clinical Chemistry. 1982: 365-373.
26. Van Slyke, et al. A permanent preparation of urease, and its use in the determination of urea. *J Biol Chem*, 1914; 19: 11-228.
27. Fawcett JK, et al. A rapid and Precise method for the determination of urea. *J Clin Pathol*, 1960; 13: 156-159.
28. Chaney, et al. Urea and ammonia determinations. *Clin Chem*, 1962; 8: 130-132.
29. Talke H, et al. Enzymatische harnstoffbestimmung in blut and serum im optischen Test nach Warburg. *Klin Wochensh*, 1965; 43: 174-175.
30. Hallett, et al. Reduced nicotinamide adenine dinucleotide-coupled reaction for emergency blood urea estimation. *Clin Chim Acta*, 1971; 35: 33-37.
31. Patton, et al. Spectrophotometric and kinetics investigation of the Berthelot reaction for the determination of ammonia. *Anal Chem*, 1977; 49: 464-469.
32. Sampson EJ, et al. A coupled-enzyme equilibrium method for the measuring urea in serum: optimization and evaluation of the AACC study group on Urea Candidate reference method. *Clin Chem*, 1980; 26: 816-826.
33. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Physician's office laboratory guidelines, tentative guideline, 2nd ed. NCCLS Document POL1-T2. Wayne, PA: NCCLS, 1992.
34. Scott MG. Electrolytes and Blood Gases. In: *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. 3rd ed. Burtis CA, Ashwood ER, eds. Philadelphia: WB Saunders Company. 1999: 1058-1059.

35. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Procedures for the handling and processing of blood specimens; tentative standard. NCCLS Document H18-A2. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
36. Overfield CV, et al. Glycosis: a re-evaluation of the effect on blood glucose. *Clin Chim Acta* 1972; 39:35-40.
37. Rehak NN, Chiang BT. Storage of whole blood: effect of temperature on the measured concentration of analytes in serum. *Clin Chem* 1988; 34:2111-4.
38. Scott MG. Electrolytes and Blood Gases. In: *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. 3rd ed. Burtis CA, Ashwood ER, eds. Philadelphia: WB Saunders Company. 1999: 1065-1066.
39. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Interference testing in clinical chemistry; proposed guideline. NCCLS Document EP7-A. Wayne, PA: NCCLS, 2002.
40. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices; approved guideline. NCCLS Document EP5-A. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
41. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Quality management for unit-use testing; proposed guideline. NCCLS Document EP18-A. Wayne, PA: NCCLS, 2002.
42. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Method comparison and bias estimation using patient samples; approved guideline. NCCLS Document EP9-A2. Wayne, PA: NCCLS, 2002.

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

Janvier 2015
Réf. : 500-7134, Rév. F
© 2005, Abaxis, Inc., Union City, CA 94587 États-Unis

1. Usage prévu

Le rotor de réactif Thérapie intensive VetScan® Plus, utilisé avec l'analyseur chimique VetScan, est conçu pour être utilisé pour la détermination quantitative *in vitro* vétérinaire d'alanine aminotransférase, de chlorure, de créatinine, de glucose, de potassium, de sodium, de dioxyde de carbone total et d'azote uréique dans du sang total hépariné, du sérum ou du plasma hépariné.

2. Résumé et explication des tests

Le rotor de réactif Thérapie intensive VetScan Plus 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	Pathologies hépatiques, notamment hépatite virale et cirrhose ; maladies cardiaques
Chlorure	Diarrhée chronique, vomissements chroniques, néphropathie, pathologie parathyroïdienne, acidose ou alcalose respiratoire chronique, hyperadrénocorticisme, hypoadrénocorticisme et traitement thiazidique.
Créatinine	Néphropathie et monitoring de dialyse rénale.
Glucose	Troubles du métabolisme lipidique, y compris du diabète sucré de type 1 et de type 2 mellitus et hypoglycémie.
Potassium	Néphrite glomérulaire ou tubulaire, insuffisance corticosurrénale, acidocétose diabétique, kalithérapie excessive par injection intraveineuse, sepsis, panhypopituitarisme, hémolyse <i>in vitro</i> , hyperaldostéronisme, malnutrition, hyperinsulinie, alcalose métabolique et perte gastro-intestinale.
Sodium	Déshydratation, diabète insipide, pertes de liquides gastro-intestinaux hypotoniques, intoxication au sel, réduction sélective du sens de la soif, pertes cutanées, brûlures, hypersudation, hyperaldostéronisme, troubles du SNC, hyponatrémie par dilution, par déplétion et intoxication par l'eau et syndrome de sécrétion inappropriée d'ADH
Dioxyde de carbone total	Alcalose et acidose métaboliques primaires et alcalose et acidose respiratoires primaires.
Azote uréique	Néphropathie et troubles métaboliques.

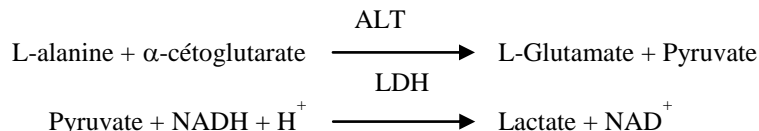
Comme c'est le cas pour toute procédure de test de diagnostic, toutes les autres procédures de test, y compris l'état clinique du patient, doivent être prises en considération avant de faire un diagnostic définitif.

3. Principe de la procédure

Aminotransférase alanine (ALT)

L'alanine aminotransférase (ALT) a été mesurée à l'aide de trois méthodes. Deux de ces méthodes – la technique de couplage dinitrophénylhydrazine colorimétrique^{1,2} et le dosage enzymatique fluorescent – sont rarement utilisées.³ Une méthode enzymatique basée sur le travail de Wróblewski et LaDue⁴ est la technique la plus fréquemment utilisée pour déterminer les concentrations d'ALT dans le sérum. Une procédure modifiée de Wróblewski et LaDue a été proposée comme procédure recommandée par la Fédération internationale de chimie clinique (FICC).⁵

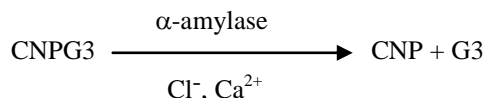
La méthode développée afin d'être utilisée avec l'analyseur VetScan est une modification de la procédure recommandée par la FICC. Dans cette réaction, l'ALT catalyse le transfert d'un groupe amino de L-alanine en α -cétoglutarate afin de former du L-glutamate et du pyruvate. Le lactate déshydrogénase 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 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'ALT présente dans l'échantillon.

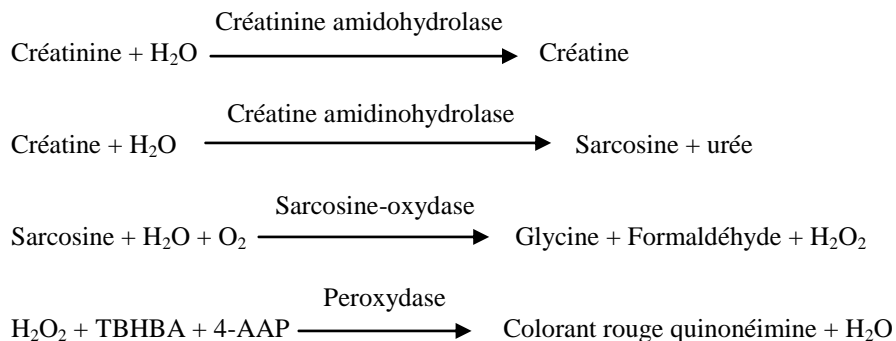
Chlorure (Cl^-)

La méthode se base sur la détermination d'une activation chloro-dépendante d'une activité de l' α -amylase. Une α -amylase désactivée est réactivée en ajoutant l'ion chlorure, ce qui permet au calcium de se réassocier à l'enzyme. La réactivation de l'activité de l' α -amylase est proportionnelle à la concentration des ions chlorure dans l'échantillon. L' α -amylase réactivée convertit le substrat, 2-chloro-*p*-nitrophényl- α -D-maltotrioside (CNPG3) en 2-chloro-*p*-nitrophénol (CNP) produisant une coloration et de l' α -maltotriose (G3). La réaction est mesurée en bichromatique et l'augmentation de l'absorbance est directement proportionnelle à l'activité de l' α -amylase réactivée et à la concentration de l'ion chlorure dans l'échantillon.⁶



Créatinine (CRE)

La méthode de Jaffé, introduite pour la première fois en 1886, est toujours utilisée de façon courante pour déterminer les taux de créatinine dans le sang. La méthode de référence actuelle combine l'utilisation de la terre à foulons (floridine) et la technique de Jaffé afin d'accroître la spécificité de la réaction.^{7,8} Il existe des méthodes enzymatiques qui sont plus spécifiques pour la créatinine que les diverses modifications de la technique de Jaffé.^{9, 10, 11} Les méthodes qui utilisent l'enzyme créatinine amidohydrolase éliminent le problème de l'interférence de l'ion ammonium présent dans les techniques qui utilisent la créatinine iminohydrolase.¹²

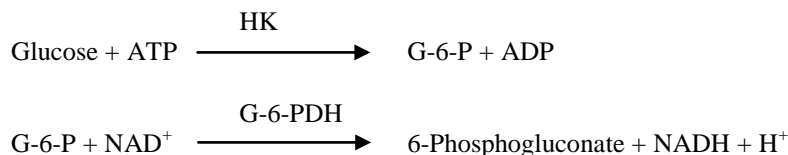


Deux cuvettes sont utilisées pour déterminer la concentration de créatinine dans l'échantillon. La créatine endogène est mesurée dans la cuvette de blanc, qui est soustraite de la combinaison de la créatine endogène et de la créatine formée à partir des réactions enzymatiques dans la cuvette d'essai.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

Glucose (GLU)

Les premières mesures de concentration de glucose ont été effectuées à l'aide de méthodes de réduction du cuivre (telles que Folin-Wu¹³ et Somogyi-Nelson^{14, 15}). Le manque de spécificité des techniques de réduction du cuivre a conduit au développement de procédures quantitatives qui utilisent les enzymes hexokinase et glucose oxydase. Le test au glucose incorporé au rotor de réactif Thérapie intensive Plus est une version modifiée de la méthode hexokinase qui a été proposée comme base pour la méthode de référence en glucose.¹⁶

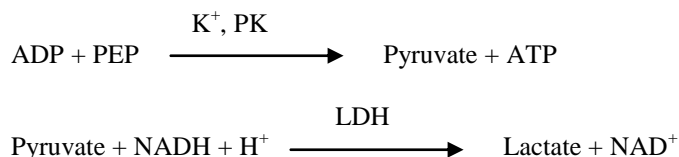
La réaction du glucose avec l'adénosine-triphosphate (ATP), catalysé par l'hexokinase (HK), produit du glucose-6-phosphate (G-6-P) et de l'adénosine diphosphate (ADP). La glucose-6-phosphate déshydrogénase (G-6-PDH) catalyse la réaction de conversion de G-6-P en 6-phosphogluconate et la réduction du nicotinamide adénine dinucléotide (NAD⁺) en NADH.



Potassium (K⁺)

Des méthodes spectrophotométriques permettant de mesurer la concentration de potassium avec des instruments de chimie clinique standard ont été développées. Une méthode enzymatique basée sur l'activation du pyruvate kinase avec du potassium donne une excellente linéarité ainsi qu'une sensibilité négligeable aux substances endogènes.^{17, 18, 19} L'interférence provenant du sodium et de l'ion ammonium est minimisée par l'ajout de Kryptofix et de glutamine synthétase, respectivement.¹⁷

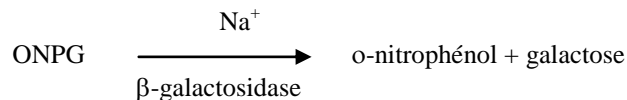
Dans la réaction enzymatique couplée, le pyruvate kinase (PK) déphosphore le phosphénolpyruvate (PEP) afin de former du pyruvate. Le lactate déshydrogénase (LDH) catalyse la conversion du pyruvate en lactate. En même temps, le NADH est oxydé en NAD⁺.



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 de potassium dans l'échantillon.

Sodium (Na⁺)

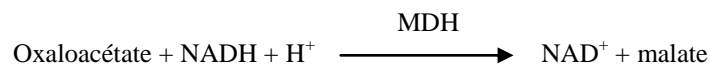
Des méthodes colorimétriques et enzymatiques permettant de mesurer la concentration de sodium sur les instruments de chimie clinique standard ont été développées.^{20, 21, 22} Dans la réaction enzymatique Abaxis, la β-galactosidase est activée par le sodium dans l'échantillon. L'enzyme activée catalyse la réaction du o-nitrophényl-o-D-galactopyranoside (ONPG) en o-nitrophénol et galactose.



Dioxyde de carbone total (tCO₂)

Le dioxyde de carbone total dans le sérum ou le plasma existe sous forme de dioxyde de carbone dissout, de dérivés carbamino-protéiques, d'ions bicarbonates et carbonates et d'acide carbonique. Le dioxyde de carbone total peut être mesuré par des méthodes enzymatiques spectrophotométriques, aux électrodes de CO₂ et jaugeur de pH qui donnent toutes des résultats précis et corrects.^{23, 24} La méthode enzymatique s'adapte bien à l'utilisation sur un analyseur biochimique courant sans y apporter de complexités.

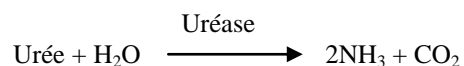
Dans la méthode enzymatique, l'échantillon est d'abord rendu alcalin afin de convertir toutes les formes de dioxyde de carbone (CO₂) en bicarbonate (HCO₃⁻). Le phosphoenolpyruvate (PEP) et le HCO₃⁻ réagissent ensuite pour former de l'oxaloacétate et du phosphate en présence de phosphoenolpyruvate carboxylase (PEPC). La malate déshydrogénase (MDH) catalyse la réaction d'oxaloacétate et de nicotinamide adénine dinucléotide réduit (NADH) en NAD⁺ et en malate. La cinétique de variation de l'absorbance due à la conversion du NADH en NAD⁺ est directement proportionnelle à la quantité de tCO₂ dans l'échantillon.



Azote uréique (BUN)

L'urée peut être mesurée de façon directe et indirecte. La réaction diacétyl monoxime, l'unique méthode directe permettant de mesurer l'urée, est utilisée de façon courante mais utilise des réactifs dangereux.²⁵ Des méthodes indirectes mesurent l'ammoniac créé à partir de l'urée : l'utilisation de l'enzyme uréase a augmenté la spécificité de ces tests.²⁶ L'ammoniac est quantifié par diverses méthodes, dont la nesslerisation (tritrage par les acides), la technique de Berthelot^{27, 28} et les réactions enzymatiques couplées.^{29, 30} Toutefois, les procédures de Berthelot catalysées sont imprévisibles lorsqu'elles mesurent l'ammoniac.³¹ Les réactions enzymatiques couplées sont rapides, ont une haute spécificité pour l'ammoniac et sont utilisées de façon courante. Une de ces réactions a été proposée comme méthode de référence admissible.³²

Dans la réaction enzymatique couplée, l'uréase hydrolyse l'urée en ammoniac et en dioxyde de carbone. Lors de la combinaison d'ammoniac avec de l' α -cétoglutarate et de la nicotinamide adénine dinucléotide réduite (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 Thérapie intensive VetScan Plus contient des billes de réactif sèches spécifiques au test (décrites ci-dessous). Chaque rotor contient un réactif à blanc d'échantillon sec (constitué de tampon, surfactants, excipients et agents conservateurs) afin de calculer les concentrations en alanine aminotransférase (ALT), chlorure, glucose, potassium, sodium, dioxyde de carbone total et azote uréique. Un blanc d'échantillon dédié est inclus dans le rotor pour la créatinine (CRE). Chaque rotor contient également un diluant composé de surfactants et de conservateurs.

Avertissements et précautions

- **Conçu pour les diagnostics *in vitro***
- Le récipient de diluant dans le rotor de réactif s'ouvre automatiquement lorsque le tiroir de l'analyseur se ferme. Un rotor dont le récipient à diluant est ouvert ne peut pas être réutilisé. Vérifier que l'échantillon ou le témoin a bien été placé dans le rotor avant de fermer le tiroir.
- Les rotors de réactif ayant déjà été utilisés contiennent des liquides organiques animaux. Suivre de bonnes pratiques de sécurité en laboratoire lors de la manutention et de l'élimination des rotors utilisés.³³ Se reporter au manuel de l'utilisateur de l'analyseur chimique VetScan pour les instructions sur le nettoyage des déversements présentant un danger biologique.

- Les rotors de réactif sont en plastique et peuvent se casser ou se fendre en cas de chute. **Ne jamais** utiliser un rotor qui est tombé, car il risque de projeter une matière présentant un danger biologique à l'intérieur de l'analyseur.
- Les billes de réactif peuvent contenir des acides ou des substances caustiques. L'utilisateur n'entre pas en contact avec les billes de réactif lorsqu'il respecte les procédures recommandées. Au cas où les billes seraient manipulées (par exemple, lors du nettoyage, après avoir laissé tomber un rotor de réactif qui s'est cassé), éviter l'ingestion, tout contact avec la peau ou l'inhalation des billes de réactif.
- Les échantillons à fortes concentrations en amylase peuvent fournir des valeurs de chlorure faussement élevées.
- Tous les réactifs contenus dans le rotor, lorsqu'ils sont conservés comme décrit ci-dessus, sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur le sachet du rotor. **Ne pas** utiliser un rotor au-delà de la date de péremption. La date de péremption est également encodée dans le code-barres imprimé sur l'anneau du code-barres. Un message d'erreur s'affichera sur l'écran de l'analyseur de sang entier VetScan si les réactifs sont périmés.

Manipulation des réactifs

Les rotors de réactif peuvent être utilisés dès leur sortie du réfrigérateur sans devoir être réchauffés. Ne pas laisser les rotors scellés dans leur sachet en aluminium à température ambiante pendant plus de 48 heures avant l'emploi. Ouvrir le sachet en aluminium scellé, retirer le rotor et l'utiliser conformément aux instructions figurant dans le manuel de l'utilisateur de l'analyseur chimique VetScan. **Tout rotor qui n'a pas été utilisé dans les 20 minutes suivant l'ouverture du sachet doit être jeté.**

Conservation

Conserver les rotors de réactif dans leur sachet scellé à une température comprise entre 2 °C et 8 °C (36 °F et 46 °F). Ne pas exposer des rotors ouverts ou fermés à la lumière directe du soleil ou à des températures supérieures à 32 °C (90 °F). Les rotors de réactif peuvent être utilisés jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'emballage. 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 chimique VetScan si les réactifs sont périmés.

Indications d'instabilité/de détérioration du rotor de réactif

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 de l'analyseur chimique VetScan pour des informations complètes sur l'utilisation de l'analyseur.

7. Prélèvement et préparation des échantillons

Des techniques de prélèvement d'échantillons sont décrites dans la partie « Prélèvement des échantillons » du manuel de l'utilisateur de l'analyseur chimique VetScan.

- La quantité minimale requise pour un échantillon est de ~100 µL de sang total hépariné, de plasma hépariné, de sérum ou de matière témoin. La chambre à échantillon du rotor de réactif peut contenir jusqu'à 120 µL d'échantillon.
- 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 secouer le tube de prélèvement pour éviter tout risque d'hémolyse.
- L'hémolyse peut générer des résultats faussement très élevés des dosages de potassium. Ce problème risque de passer inaperçu lors de l'analyse du sang total (une libération de potassium aussi faible que 0,5 % des érythrocytes risque d'augmenter le niveau de sérum de potassium de 0,5 mmol/L). De plus, même les échantillons non hémolysés qui ne sont pas traités dans les plus brefs délais, peuvent présenter des niveaux accrus de potassium suite à la fuite de potassium intracellulaire.³⁴
- Les échantillons de sang total prélevés par ponction veineuse doivent être traités dans les 60 minutes suivant le prélèvement.³⁵ La durée de la période de jeûne et le type d'échantillon prélevé chez le patient influencent les concentrations de glucose. Afin de déterminer avec précision les résultats de glucose, les échantillons devraient provenir d'un patient qui n'a rien mangé au cours des 12 heures précédentes. Les concentrations de glucose diminuent d'environ 5 à 12 mg/dL en 1 heure dans des échantillons non centrifugés conservés à température ambiante.³⁶

- La réfrigération peut être la cause d'importants changements des concentrations de **créatinine** et de **glucose**.³⁷ Si l'échantillon ne peut être traité dans les 60 minutes, il peut être séparé en plasma ou sérum et conservé dans des tubes de prélèvement munis d'un bouchon à une température entre 2 °C et 8 °C (36 °F et 46 °F).
- 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.
- Commencer le test dans les 10 minutes suivant le transfert de l'échantillon dans le rotor de réactif.
- Les échantillons présentant des concentrations en amylase >4000 U/L fourniront des valeurs de chlorure faussement élevées.
- La concentration en dioxyde de carbone total est déterminée le plus précisément lorsque le dosage est effectué immédiatement après l'ouverture du tube et aussitôt que possible après le prélèvement et le traitement du sang dans le tube non ouvert. L'air ambiant contient nettement moins de dioxyde de carbone que le plasma, et du dioxyde de carbone gazeux dissout s'échappera de l'échantillon dans l'air, ce qui entraînera une réduction de la valeur du dioxyde de carbone atteignant jusqu'à 6 mmol/L en une heure.³⁸

8. Procédure

Matériel fourni

- Un rotor de réactif Thérapie intensive VetScan Plus réf. No : 500-1042 (Réf. d'une boîte de 12 rotors : 500-0042-12)

Matériel nécessaire mais non fourni

- Analyseur de réaction chimique VetScan

Paramètres de test

L'analyseur chimique 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 Thérapie intensive VetScan Plus est inférieur à 14 minutes. L'analyseur maintient le rotor de réactif à une température de 37 °C (98,6 °F) pendant la durée de la mesure.

Procédure de test

Les procédures de prélèvement d'échantillons et d'utilisation complètes sont expliquées en détail dans le manuel de l'utilisateur de l'analyseur chimique 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 fournit les données d'étalonnage spécifiques au rotor. Se reporter au manuel de l'utilisateur de l'analyseur chimique VetScan.

Contrôle qualité

Les performances de l'analyseur chimiques VetScan peuvent être vérifiées en procédant à des contrôles.

Se reporter au manuel de l'utilisateur de l'analyseur VetScan pour une explication détaillée de l'exécution, l'enregistrement, l'interprétation et le tracé des résultats des 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 de l'analyseur chimique VetScan.

L'interprétation des résultats est également expliquée en détail dans le manuel de l'utilisateur. Les résultats sont imprimés sur des fiches de résultats fournies par Abaxis. Le dos des fiches de résultats est adhésif pour permettre de les insérer facilement dans les dossiers de patient.

10. Limitations de la procédure

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

- **L'héparine de lithium** est l'unique anticoagulant dont **l'utilisation est recommandée** avec l'analyseur chimique VetScan. 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 Thérapie intensive VetScan Plus.
- Les échantillons dont les hémocrites dépassent 62% du volume globulaire total risquent de donner des résultats inexacts. Les échantillons dont les hémocrites sont élevés peuvent être décrits comme étant hémolysés. La rotation de ces échantillons peut être décélérée afin d'obtenir du plasma et ensuite relancée dans un nouveau rotor de réactif.
- **Tout résultat d'un test spécifique qui dépasse la plage de dosage doit être analysé en utilisant une autre méthode de test approuvée, ou envoyé à un laboratoire de référence. Ne pas diluer l'échantillon et le réanalyser dans l'analyseur chimique VetScan.**

Attention : Des tests poussés du système 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.

Interférence

Diverses substances ont été testées pour les interférences avec les analytes. Des pools de sérum humain ont été préparés. La concentration à laquelle chaque interférence potentiel a été testé était basée sur les niveaux d'essai utilisés dans NCCLS EP7-P.³⁹

Effets des substances endogènes

- Les substances physiologiques interférentes (hémolyse, ictère et lipémie) entraînent des modifications des concentrations rapportées pour 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. Le système 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 carte à résultat à la place du résultat.
- Des taux extrêmement élevés d'amylase (>9 000 U/L) ont un effet significatif, avec une augmentation >10 %, sur le résultat du chlorure. La concentration d'amylase n'est pas évaluée par le système VetScan pour chaque spécimen.
- Le dosage du potassium dans le système VetScan est un dosage associant la pyruvate kinase (PK) et la lactate déshydrogénase (LDH). Par conséquent, en cas de traumatisme musculaire très étendu ou en présence d'un taux de créatinine kinase (CK) extrêmement élevé, le système VetScan peut recouvrir une valeur de potassium (K+) faussement élevée. En pareils cas, l'obtention d'un taux de potassium élevé de façon inattendue doit être confirmée par une autre méthode de dosage.

11. Valeurs attendues

Ces plages de référence sont fournies uniquement à titre indicatif. Les plages de référence les plus définitives sont celles établies pour la population des patients. Ces résultats des tests doivent être interprétés conjointement avec les signes cliniques du patient. Les niveaux de potassium et de protéine totale déterminés dans le plasma peuvent différer des plages indiquées ci-dessous.

Tableau 1 : Intervalles de référence VetScan

Analyte	Chien	Félin	Équin
Aminotransférase alanine (ALT)	10 – 118 U/L	20 – 100 U/L	5 – 20 U/L
Chlorure (Cl ⁻)	106 – 120 mmol/L	112 – 126 mmol /L*	92 – 104 mmol /L
Créatinine (CRE)	0,3 – 1,4 mg/dL (27 – 124 µmol/L)	0,3 – 2,1 mg/dL (27 – 186 µmol/L)	0,6 – 2,2 mg/dL (53 – 194 µmol/L)
Glucose (GLU)	60 – 110 mg/dL (3,3 – 6,1 mmol/L)	70 – 150 mg/dL (3,9 – 8,3 mmol/L)	65 – 110 mg/dL (3,6 – 6,1 mmol/L)
Potassium (K ⁺)	3,7 – 5,8 mmol/L	3,7 – 5,8 mmol/L	2,5 – 5,2 mmol/L
Sodium (Na ⁺)	138 – 160 mmol/L	142 – 164 mmol/L	126 – 146 mmol/L
Dioxyde de carbone total (tCO ₂)	12 – 27 mmol/L	15 – 24 mmol/L	20 – 33 mmol/L
Azote uréique (BUN)	7 – 25 mg/dL (2,0 – 9,0 mmol/urée/L)	10 – 30 mg/dL (4,0 – 11,0 mmol/urée/L)	7 – 25 mg/dL (2,0 – 9,0 mmol/urée/L)

*L'intervalle de référence pour félins s'adresse uniquement aux chats adultes. Les chatons (chats de moins de 6 mois) peuvent avoir des niveaux de chlorure inférieurs.

12. Caractéristiques de performance

Linéarité

Les réactions chimiques pour chaque analyte sont linéaires dans la plage dynamique indiquée ci-dessous quand l'analyseur chimique VetScan est utilisé conformément à la procédure recommandée (se reporter au manuel de l'utilisateur de l'analyseur chimique VetScan).

Tableau 2 : Plages dynamiques VetScan

Analyte	Unités communes	Unités SI
Aminotransférase alanine	5 – 2000 U/L	5 – 2000 U/L
Chlorure	80 – 135 mmol/L	80 – 135 mmol/L
Créatinine	0,2 – 20 mg/dL	18 – 1768 µmol/L
Glucose	10 – 700 mg/dL	0,56 – 38,9 mmol/L
Potassium	1,5 – 8,5 mmol/L	1,5 – 8,5 mmol/L
Sodium	110 – 170 mmol/L	110 – 170 mmol/L
Dioxyde de carbone total	5 – 40 mmol/L	5 – 40 mmol/L
Azote uréique	2 – 180 mg/dL	0,7 – 64,3 mmol/urée/L

Sensibilité (limites de détection)

La limite inférieure de la plage (dynamique) rapportable pour chaque analyte est la suivante : alanine aminotransférase 5 U/L, chlorure 80 mmol/L, créatinine 0,2 mg/dL (18 µmol/L), glucose 10 mg/dL (0,56 mmol/L), potassium 1,5 mmol/L, sodium 110 mmol/L, dioxyde de carbone total 5 mmol/L et azote uréique 2,0 mg/dL (0,7 mmol urée/L).

Précision

Des études de précision ont été effectuées selon les directives NCCLS (CLSI) EP5-A⁴⁰ avec des modifications basées sur NCCLS (CLSI) EP18-P⁴¹ pour les appareils à utilisation par unité. Les résultats intra-test et de précision totale ont été déterminés en utilisant deux niveaux de témoins disponibles dans le commerce. Les études ont utilisé plusieurs instruments et deux lots de rotors de réactif. Les analyses de calcium, créatinine, glucose, sodium et azote uréique ont été effectuées sur un site ; les analyses de potassium et de dioxyde de carbone total ont été effectuées sur deux sites sur une période de 20 jours ; les analyses de chlorure ont été effectuées sur deux sites sur une période de 5 jours.

Les résultats des études de précision figurent dans le tableau 3.

Tableau 3 : Précision

Analyte	Taille de l'échantillon	Intra-test	Total
Alanine aminotransférase (U/L)			
<u>Témoin n° 1</u>	N = 80		
Moyenne		21	21
É-T		2,76	2,79
CV (%)		13,4	13,5
<u>Témoin n° 2</u>			
Moyenne		52	52
É-T		2,7	3,25
CV (%)		5,2	6,2
Chlorure (mmol/L)			
<u>Témoin n° 1</u>	N = 160		
Moyenne		97,8	97,8
É-T		1,63	1,74
CV (%)		1,7	1,7
<u>Témoin n° 2</u>			
Moyenne		113,6	113,6
É-T		1,97	2,22
CV (%)		1,7	2,0
Créatinine (mg/dL)			
<u>Témoin n° 1</u>	N=80		
Moyenne		1,1	1,1
É-T		0,14	0,14
CV (%)		12,5	13,1
<u>Témoin n° 2</u>			
Moyenne		5,2	5,2
É-T		0,23	0,27
CV (%)		4,4	5,2
Glucose (mg/dL)			
<u>Témoin n° 1</u>	N=80		
Moyenne		66	66
É-T		0,76	1,03
CV (%)		1,1	1,6
<u>Témoin n° 2</u>			
Moyenne		278	278
É-T		2,47	3,84
CV (%)		0,9	1,4
Potassium (mmol/L)			
<u>Témoin n° 1</u>	N = 80		
Moyenne		6,7	6,7
É-T		0,26	0,26
CV (%)		3,9	3,9
<u>Témoin n° 2</u>			
Moyenne		4,3	4,3
É-T		0,22	0,22
CV (%)		5,1	5,1

Tableau 3 : Précision (suite)

Analyte	Taille de l'échantillon	Intra-test	Total
Sodium (mmol/L)			
<u>Témoïn n° 1</u>	N = 80		
Moyenne		148	148
É-T		5,1	5,1
CV (%)		3,4	3,4
<u>Témoïn n° 2</u>			
Moyenne		118	118
É-T		3,2	3,2
CV (%)		2,7	2,7
Dioxyde de carbone total (mmol/L)			
<u>Témoïn n° 1</u>	N = 80		
Moyenne		19	19
É-T		1,39	1,39
CV (%)		7,3	7,3
<u>Témoïn n° 2</u>			
Moyenne		9	9
É-T		0,60	0,60
CV (%)		6,8	6,8
Azote uréique (mg/dL)			
<u>Témoïn n° 1</u>	N = 80		
Moyenne		19	19
É-T		0,35	0,40
CV (%)		1,9	2,1
<u>Témoïn n° 2</u>			
Moyenne		65	65
É-T		1,06	1,18
CV (%)		1,6	1,8

Corrélation

Les échantillons de sang total hépariné et de sérum ont été prélevés et titrés sur l'analyseur chimique VetScan et par une (ou plusieurs) méthode(s) comparative(s). Les échantillons de sang total ont été analysés sur place par l'analyseur chimique VetScan, et les échantillons de sérum ont été analysés par l'analyseur chimique VetScan et par des méthodes comparatives. Dans certains cas, des échantillons complémentés (à faible concentration ou à forte concentration) ont été utilisés afin de couvrir toute la plage dynamique. Les échantillons ont été choisis dans le but de répondre aux valeurs de distribution dans les directives NCCLS EP9-A.⁴² Des statistiques de corrélation représentatives figurent dans le tableau 4.

Tableau 4 : Corrélation de l'analyseur chimique VetScan avec une (des) méthode(s) comparative(s)

		Coefficient de corrélation	Pente	Ordonnée à l'origine	N	Plage d'échantillon
Aminotransférase alanine (U/L)	Chien	1,00	0,95	0	22-180	10 – 1549
	Félin	0,98	0,92	0	21-55	27 – 99
	Équin	0,97	0,94	6	7-101	11 – 30
Chlorure (mmol/L)	Chien	0,935	0,875	15	38	78 – 132
	Félin	0,979	0,882	12	20	86 – 123
	Équin	S/O	S/O	S/O	S/O	S/O
Créatinine (mg/dL)	Chien	0,99	1,00	0,0	22-180	0,6 – 10,6
	Félin	1,00	1,01	-0,1	21-55	0,3– 13,6
	Équin	0,95	1,00	-0,4	7-101	0,3 – 6,2
Glucose (mg/dL)	Chien	0,96	1,01	-6	22-180	28 – 348
	Félin	1,00	0,97	3	21-55	52 – 607
	Équin	0,97	0,94	16	7-101	36 – 353
Potassium (mmol/L)	Chien	0,96	0,92	0,4	22-180	3,2 – 6,9
	Félin	0,91	0,92	0,5	21-55	2,7– 5,3
	Équin	0,84	0,97	0,1	7-101	1,8 – 4,6
Sodium (mmol/L)	Chien	0,89	0,97	4,8	22-180	118 – 183
	Félin	0,86	1,08	-12,2	21-55	122 – 166
	Équin	0,86	1,00	-0,01	7-101	110 – 166
Dioxyde de carbone total (mmol/L)	Chien	0,81	0,86	3,5	22-180	6 – 23
	Félin	0,93	0,90	2,4	21-55	7 – 31
	Équin	0,97	0,93	2,1	7-101	9 – 39
Azote uréique (mg/dL)	Chien	1,00	0,98	-2	22-180	4 – 117
	Félin	1,00	1,07	-5	21-55	14 – 165
	Équin	1,00	0,95	-1	7-101	3 – 64

13. Bibliographie

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

13. Bibliographie (suite)

17. Berry MN, et al. Enzymatic determination of potassium in serum. *Clin Chem* 1989; 35: 817-820.
18. Van Pelt J. Enzymatic determination of sodium, potassium and chloride in serum compared with determination by flame photometry, coulometry and ion selective electrodes. *Clin Chem* 1994; 40: 846-847.
19. Hubl W, et al. Enzymatic determination of sodium, potassium and chloride in abnormal (hemolyzed, icteric, lipemic, paraproteinemic, or uremic) serum samples compared with indirect determination with ion selective electrodes. *Clin Chem* 1994; 40: 1528-1531.
20. Helgerson RC, et al. Host-guest Complexation. 50. Potassium and sodium ion-selective chromogenic ionophores. *J Amer Chem Soc* 1989; 111: 6339-6350.
21. Kumar A, et al. Chromogenic ionophore-based methods for spectrophotometric assay of sodium and potassium in serum and plasma. *Clin Chem* 1988; 34: 1709-1712.
22. Berry MN, et al. Enzymatic determination of sodium in serum. *Clin Chem* 1988; 34: 2295-2298.
23. Skeggs LT Jr. An automatic method for the determination of carbon dioxide in blood plasma. *Am J. Clin Pathol* 1960; 33: 181-185.
24. Korzun WJ, Miller WG. Carbon Dioxide. In: *Clinical chemistry theory, analysis and correlation*, 2nd ed. Kaplan LA, Pesce AJ, eds. St. Louis: The CV Mosby Company. 1989: 869-872.
25. Fales FW. Urea in serum, direct diacetyl monoxime method. In: *Selected Methods of Clinical Chemistry*, Vol 9. Faulkner WR, Meites S, eds. Washington, DC.: American Association for Clinical Chemistry. 1982: 365-373.
26. Van Slyke, et al. A permanent preparation of urease, and its use in the determination of urea. *J Biol Chem*, 1914; 19: 11-228.
27. Fawcett JK, et al. A rapid and Precise method for the determination of urea. *J Clin Pathol*, 1960; 13: 156-159.
28. Chaney, et al. Urea and ammonia determinations. *Clin Chem*, 1962; 8: 130-132.
29. Talke H, et al. Enzymatische harnstoffbestimmung in blut and serum im optischen Test nach Warburg. *Klin Wochensch*, 1965; 43: 174-175.
30. Hallett, et al. Reduced nicotinamide adenine dinucleotide-coupled reaction for emergency blood urea estimation. *Clin Chim Acta*, 1971; 35: 33-37.
31. Patton, et al. Spectrophotometric and kinetics investigation of the Berthelot reaction for the determination of ammonia. *Anal Chem*, 1977; 49: 464-469.
32. Sampson EJ, et al. A coupled-enzyme equilibrium method for the measuring urea in serum: optimization and evaluation of the AACC study group on Urea Candidate reference method. *Clin Chem*, 1980; 26: 816-826.
33. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Physician's office laboratory guidelines, tentative guideline, 2nd ed. NCCLS Document POL1-T2. Wayne, PA: NCCLS, 1992.
34. Scott MG. Electrolytes and Blood Gases. In: *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. 3rd ed. Burtis CA, Ashwood ER, eds. Philadelphia: WB Saunders Company. 1999: 1058-1059.
35. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Procedures for the handling and processing of blood specimens; tentative standard. NCCLS Document H18-A2. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
36. Overfield CV, et al. Glycolysis: a re-evaluation of the effect on blood glucose. *Clin Chim Acta* 1972; 39:35-40.
37. Rehak NN, Chiang BT. Storage of whole blood: effect of temperature on the measured concentration of analytes in serum. *Clin Chem* 1988; 34:2111-4.
38. Scott MG. Electrolytes and Blood Gases. In: *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. 3rd ed. Burtis CA, Ashwood ER, eds. Philadelphia: WB Saunders Company. 1999: 1065-1066.
39. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Interference testing in clinical chemistry; proposed guideline. NCCLS Document EP7-A. Wayne, PA: NCCLS, 2002.
40. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices; approved guideline. NCCLS Document EP5-A. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
41. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Quality management for unit-use testing; proposed guideline. NCCLS Document EP18-A. Wayne, PA: NCCLS, 2002.
42. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Method comparison and bias estimation using patient samples; approved guideline. NCCLS Document EP9-A2. Wayne, PA: NCCLS, 2002.

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

Enero 2015
PN: 500-7134, Rev. E
© 2005, Abaxis, Inc., Union City, CA 94587

1. Indicaciones

El rotor reactivo de atención crítica VetScan® Plus, utilizado con el analizador químico VetScan, está destinado a ser usado para la determinación cuantitativa veterinaria *in vitro* de alanina aminotransferasa, cloruro, creatinina, glucosa, potasio, sodio, dióxido de carbono total y nitrógeno ureico en sangre entera heparinizada, plasma heparinizado o suero.

2. Resumen y explicación de las pruebas

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

Alanina aminotransferasa	Enfermedades hepáticas, incluidas la hepatitis viral y la cirrosis; cardiopatías.
Cloruro	Diarrea crónica, vómitos crónicos, enfermedad renal, enfermedad paratiroidea, acidosis o alcalosis respiratoria crónica, hiperadrenocorticismo, hipoadrenocorticismo y terapia con tiazidas.
Creatinina	Enfermedad renal y control de diálisis renal.
Glucosa	Alteraciones del metabolismo de carbohidratos, incluida la diabetes mellitus e hipoglucemia del adulto y juvenil.
Potasio	Enfermedad glomerular o tubular renal, insuficiencia adrenocortical, cetoacidosis diabética, tratamiento excesivo con potasio endovenoso, sepsis, panhipopituitarismo, hemólisis <i>in vitro</i> , hiperaldosteronismo, malnutrición, hiperinsulinismo, alcalosis metabólica y pérdida gastrointestinal.
Sodio	Deshidratación, diabetes insípida, pérdida de líquidos gastrointestinales hipotónicos, intoxicación por sal, disminución selectiva de la sensación de sed, pérdidas cutáneas, quemaduras, sudoración, hiperaldosteronismo, alteraciones del SNC, hiponatremia por dilución, por depleción y por delirio, y síndrome de secreción inadecuada de HAD.
Dióxido de carbono total	Alcalosis y acidosis metabólica primaria, y alcalosis y acidosis respiratoria primarias.
Nitrógeno ureico	Enfermedades renales y metabólicas.

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

3. Principio del procedimiento

Alanina aminotransferasa (ALT)

La alanina aminotransferasa (ALT) ha sido medida mediante tres métodos. Dos de estos métodos: la técnica de acoplamiento colorimétrico por dinitrofenilhidracina^{1,2} y la prueba enzimática fluorescente, se usan muy raramente³. La técnica más común para la determinación de las concentraciones de ALT en suero es un método enzimático basado en el trabajo de Wróblewski y LaDue⁴. La Federación Internacional de Química Clínica (IFCC) ha propuesto como método recomendado un procedimiento Wróblewski y LaDue modificado⁵.

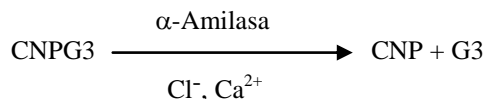
El método desarrollado para ser usado con el analizador VetScan es una modificación del procedimiento recomendado por la IFCC. En esta reacción, la ALT cataliza la transferencia de un grupo amino de la L-alanina al α -cetoglutarato para formar L-glutamato y piruvato. La lactato deshidrogenasa cataliza 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.

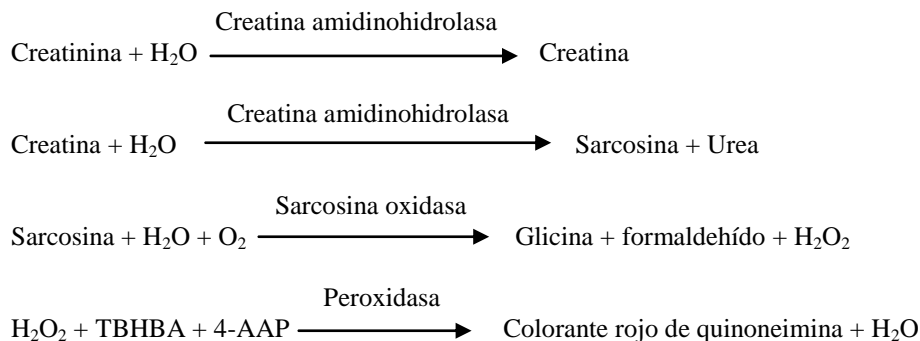
Cloruro (Cl^-)

El método se basa en la determinación de la activación, dependiente del cloruro, de la actividad de la α -amilasa. La α -amilasa desactivada se reactiva al añadir el ion cloruro, permitiendo que el calcio se vuelva a asociar con la enzima. La reactivación de la α -amilasa es proporcional a la concentración de iones de cloruro en la muestra. La α -amilasa reactivada convierte el sustrato, 2-cloro-p-nitrofenil- α -D-maltotriosido (CNPG3) en 2-cloro-p-nitrofenol (CNP) que produce color y una α -maltotriosa (G3). La reacción se mide bicromáticamente y el aumento en la absorbancia es directamente proporcional a la actividad de la α -amilasa reactivada y la concentración de ión cloruro en la muestra⁶.



Creatinina (CRE)

El método Jaffe, presentado en 1886, sigue siendo el método usado con mayor frecuencia para la determinación de los niveles de creatinina en la sangre. El método actual de referencia combina el uso de tierra de Fuller (floridina) con la técnica de Jaffe para aumentar la especificidad de la reacción^{7, 8}. Se desarrollaron métodos enzimáticos más específicos para la creatinina que las distintas modificaciones de la técnica Jaffe^{9, 10, 11}. Los métodos que usan a la enzima creatinina amidohidrolasa eliminan el problema de la interferencia del ión amoníaco de las técnicas que usan creatinina iminohidrolasa¹².

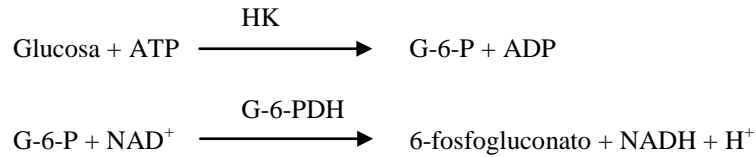


Se utilizan dos cubetas para determinar la concentración de creatinina en la muestra. La creatina endógena se mide en la cubeta de referencia, que es restada de la creatina endógena combinada y la creatina formada a partir de las reacciones enzimáticas en la cubeta de prueba. Una vez eliminada la creatina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

Glucosa (GLU)

Las primeras mediciones de la concentración de glucosa fueron realizadas mediante métodos de reducción del cobre (como Folin-Wu¹³ y Somogyi-Nelson^{14, 15}). La falta de especificidad en las técnicas de reducción del cobre llevó al desarrollo de procedimientos cuantitativos con las enzimas hexoquinasa y glucosa oxidasa. La prueba de glucosa incorporada en el rotor reactivo de atención crítica VetScan Plus es una versión modificada del método de la hexoquinasa, que fue propuesto como la base del método de referencia para glucosa¹⁶.

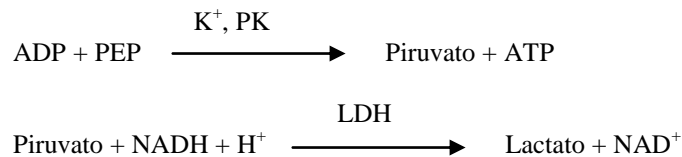
La reacción de glucosa con adenosina trifosfato (ATP), catalizada por la hexoquinasa (HK), produce glucosa-6-fosfato (G-6-P) y adenosina difosfato (ADP). La glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G-6-PDH) cataliza la reacción de G-6-P en 6-fosfogluconato y la reducción de nicotinamida adenina dinucleótido (NAD⁺) a NADH.



Potasio (K⁺)

Se han desarrollado métodos espectrofotométricos que permiten la medición de la concentración del potasio con instrumentación estándar de química clínica. Un método enzimático basado en la activación de piruvato quinasa con potasio muestra excelente linealidad y susceptibilidad despreciable a las sustancias endógenas^{17, 18, 19}. La interferencia del sodio y del ión amoníaco se minimiza al agregar Kriptofix y glutamato deshidrogenasa, respectivamente.¹⁷

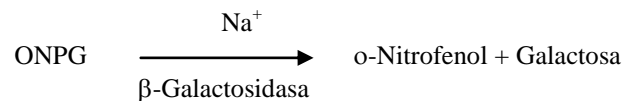
En la reacción de acoplamiento de enzimas, la piruvato quinasa (PK) desfosforila al fosfoenolpiruvato (PEP) para formar piruvato. La lactatodeshidrogenasa (LDH) cataliza la conversión de piruvato a lactato. Al mismo tiempo, NADH se oxida a NAD⁺.



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

Sodio (Na⁺)

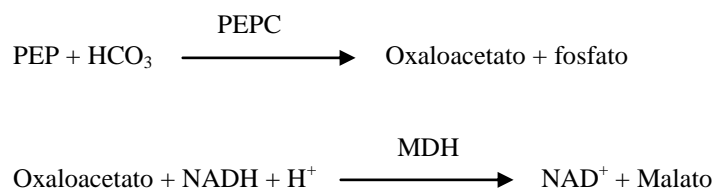
Se han desarrollado métodos colorimétricos y enzimáticos que permiten la medición de la concentración del sodio con instrumentación estándar de química clínica^{20, 21, 22}. En la reacción enzimática Abaxis, la β-galactosidasa es activada por el sodio en la muestra. La enzima activada cataliza la reacción de o-nitrofenilo-o-D-galactopiranosida (ONPG) a o-nitrofenol y galactosa.



Dióxido de carbono total (tCO₂)

El dióxido de carbono total en suero o en plasma existe como dióxido de carbono disuelto, derivados carbamino de las proteínas, iones de bicarbonato y carbonato, y ácido carbónico. El dióxido de carbono total puede ser medido por el indicador de pH, método de electrodo CO₂ y métodos enzimáticos electrofotométricos, que producen todos resultados precisos y exactos^{23, 24}. El método enzimático está bien adaptado para usar en un analizador químico sanguíneo de rutina sin agregar complejidad.

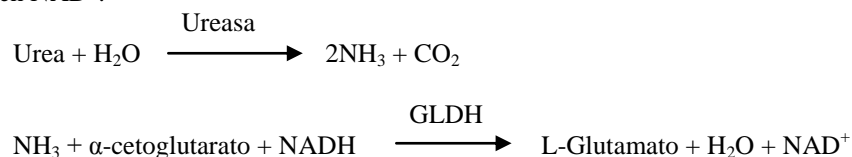
En el método enzimático, la muestra primero se hace alcalina para convertir todas las formas de dióxido de carbono (CO₂) a bicarbonato (HCO₃⁻). El fosfoenolpiruvato (PEP) y el HCO₃⁻ reaccionan para formar oxaloacetato y fosfato en presencia de fosfoenolpiruvato carboxilasa (PEPC). La malato deshidrogenasa (MDH) cataliza la reacción de oxaloacetato y nicotinamida adenina dinucleótido reducida (NADH) a NAD⁺ y malato. La velocidad del cambio en la absorbancia debido a la conversión de NADH en NAD⁺ es directamente proporcional a la cantidad de tCO₂ en la muestra.



Nitrógeno ureico (BUN)

La urea puede ser medida tanto directa como indirectamente. La reacción de diacetil monoxima, el único método directo para medir la urea, es la usada más comúnmente, pero emplea reactivos peligrosos²⁵. Los métodos indirectos miden el amoníaco creado a partir de la urea; el uso de la enzima ureasa aumentó la especificidad de estas pruebas²⁶. El amoníaco es cuantificado por una variedad de métodos, incluida la nesslerización (valoración ácida), la técnica de Berthelot^{27, 28} y reacciones enzimáticas acopladas^{29, 30}. Sin embargo, los procedimientos de Berthelot catalizados son erráticos cuando se mide el amoníaco³¹. Las reacciones enzimáticas acopladas son rápidas, tienen una elevada especificidad para el amoníaco y son las usadas con mayor frecuencia. Una de estas reacciones fue propuesta como posible método de referencia³².

En la reacción de acoplamiento de enzimas, la ureasa hidroliza la urea en amoníaco y dióxido de carbono. Al combinarse el amoníaco con α -cetoglutarato y nicotinamida adenina dinucleótido reducida (NADH), la enzima glutamato deshidrogenasa (GLDH) oxida la NADH en NAD⁺.



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

4. Principios de la operación

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

5. Descripción de los reactivos

Reactivos

Cada rotor reactivo de atención crítica VetScan Plus contiene soportes sólidos reactivos secos específicos para la prueba (descritos a continuación). Un reactivo seco de muestra de referencia (con amortiguador, surfactantes, excipientes y conservantes) se incluye en cada rotor para utilizar en el cálculo de las concentraciones de alanina aminotransferasa (ALT), cloruro, glucosa, potasio, sodio, dióxido de carbono total y nitrógeno ureico. En el rotor se incluye una muestra de referencia dedicada para la creatinina (CRE). Cada rotor contiene un diluyente que consta de surfactantes y conservantes.

Advertencias y precauciones

- **Para uso diagnóstico *in vitro*.**
- El envase del diluyente del rotor reactivo se abre automáticamente cuando se cierra el cajón del analizador. Un rotor con un contenedor diluyente abierto no puede volver a utilizarse. Asegúrese de que la muestra o la prueba esté colocada en el rotor antes de cerrar el cajón.
- Los rotores reactivos usados contienen líquidos corporales animales. Siga las buenas prácticas de laboratorio con respecto a la seguridad cuando manipule y elimine rotores usados³³. Consulte el Manual del usuario del analizador químico VetScan para obtener las instrucciones referidas a la limpieza de derrames biopeligrosos.
- Los rotores reactivos son de plástico y pueden romperse o estallar si se caen. **Nunca** use un rotor que se haya caído ya que puede esparcir material biológico peligroso en el interior del analizador.
- 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.
- Las muestras con concentraciones altas de amilasa pueden dar lecturas de cloruro falsamente elevadas.

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

Instrucciones para la manipulación de los reactivos

Los rotores reactivos pueden usarse inmediatamente después de retirarse del refrigerador, sin calentarlos previamente. 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 de aluminio sellada, retire el rotor y use de acuerdo con las instrucciones del Manual del usuario del analizador químico VetScan. **Deseche los rotores no usados transcurridos 20 minutos de la apertura de la bolsa.**

Almacenamiento

Almacene los 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). Los rotores reactivos pueden ser usados hasta la fecha de caducidad indicada en el paquete. 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/deterioro del rotor reactivo

Una bolsa desgarrada o dañada puede hacer que el rotor sin uso entre en contacto con la humedad, lo que puede afectar el rendimiento del reactivo de manera negativa. No utilice un rotor de una bolsa dañada.

6. Instrumento

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

7. Obtención y preparación de las muestras

En la sección “Obtención de muestras” del manual del operador del analizador químico VetScan se describen las técnicas para la obtención de las muestras.

- El tamaño mínimo de muestra requerido es ~100 µl de sangre entera heparinizada, plasma heparinizado, suero o material de control. La cámara de muestra del rotor reactivo puede contener hasta 120 µl de muestra.
- Las muestras de sangre entera obtenidas por venopunción deben homogeneizarse antes de transferir una muestra al rotor reactivo. Invierta cuidadosamente el tubo para obtención de muestras varias veces justo antes de transferir la muestra. No agite el tubo para obtención de muestras; esto puede causar hemólisis.
- La hemólisis puede provocar resultados erróneamente elevados en las pruebas de potasio. Este problema puede pasar desapercibido cuando se analiza sangre entera (la liberación de potasio de apenas 0,5% de los eritrocitos puede aumentar el nivel sérico de potasio en 0,5 mmol/l). Además, incluso las muestras no hemolizadas que no se procesan con prontitud pueden tener mayores niveles de potasio debido a la filtración de potasio intracelular³⁴.
- Las muestras de sangre entera obtenidas por venopunción se deben analizar dentro de los 60 minutos posteriores a la extracción³⁵. Las concentraciones de **glucosa** se ven afectadas por el tiempo transcurrido desde que el paciente ingirió alimentos y el tipo de muestra obtenida de él. Para determinar los resultados de glucosa con precisión, deben obtenerse muestras de un paciente que haya ayunado por lo menos, durante 12 horas. Las concentraciones de glucosa disminuyen aproximadamente 5-12 mg/dl por hora en muestras no centrifugadas almacenadas a temperatura ambiente³⁶.
- La refrigeración de muestras de sangre entera puede provocar cambios significativos en las concentraciones de **creatinina** y **glucosa**³⁷. La muestra puede separarse en plasma y suero, y almacenarse en tubos de ensayo con tapa a 2-8° C (36-46° F) si la muestra no se analiza dentro de los 60 minutos.
- 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).
- Comience la prueba en los 10 minutos siguientes a la transferencia de la muestra al rotor reactivo.

- Las muestras con concentraciones de amilasa de más de 4000 U/l darán lecturas de cloruro falsamente elevadas.
- La concentración de dióxido de carbono total es determinada con mayor precisión cuando la prueba se lleva a cabo inmediatamente después de abrir el tubo y lo más pronto posible después de la obtención y procesado de la sangre en el tubo cerrado. El aire contiene mucho menos dióxido de carbono que el plasma, y el dióxido de carbono gaseoso disuelto escapará de la muestra al aire, con la reducción resultante en el valor del dióxido de carbono de hasta 6 mmol/l en el curso de 1 hora.³⁸

8. Procedimiento

Materiales suministrados

- Un rotor reactivo de atención crítica VetScan Plus PN: 500 -1042 (una caja de 12 rotores, PN: 500-0042-12)

Materiales necesarios pero no suministrados

- Analizador químico VetScan

Parámetros de prueba

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

Procedimiento de prueba

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

Control de calidad

El rendimiento del analizador químico VetScan puede verificarse al procesarse controles.

Consulte el Manual del usuario del analizador químico VetScan para obtener información más detallada sobre la realización, el registro, la interpretación y la extrapolación de los resultados de control.

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 del analizador químico VetScan.

En el Manual del usuario se detalla también la interpretación de los resultados, los cuales se imprimen en tarjetas de resultados proporcionadas por Abaxis. La parte posterior de las tarjetas de resultados es adhesiva para facilitar su colocación en los archivos del paciente.

10. Limitaciones del procedimiento

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

- El único anticoagulante **recomendado para uso** con el sistema químico VetScan es **heparina de litio**. Abaxis ha realizado estudios que demuestran que EDTA, fluoruro, oxalato y cualquier otro anticoagulante que contenga iones de amoníaco interferirán con, por lo menos, un producto químico contenido en el rotor reactivo de atención crítica VetScan Plus.
- Las muestras con hematocritos que excedan del 62% de volumen corpuscular de eritrocitos darán resultados inexactos. Las muestras con un hematocrito elevado pueden ser analizadas como hemolizadas. Estas muestras pueden ser centrifugadas para obtener plasma y luego realizar la prueba con un nuevo rotor reactivo.

- Todo resultado para una prueba particular que supere los valores del análisis deberá analizarse por otro método de prueba homologada o ser enviado a un laboratorio de referencia. No diluya la muestra ni vuelva a analizarla en el analizador químico VetScan.

Advertencia: Pruebas exhaustivas del sistema 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 los resultados obtenidos pueden quedar fuera de los valores de referencia. La muestra puede volverse a analizar con un nuevo rotor reactivo.

Interferencia

Se probaron sustancias como factores de interferencia con los analitos. Se prepararon mezclas de suero humano. La concentración a la cual se probó cada interferente potencial se basó en los niveles de prueba en NCCLS EP7-P³⁹.

Efectos de las sustancias endógenas

- Los factores de interferencia fisiológicos (hemólisis, ictericia y lipidemia) provocan cambios en las concentraciones analizadas 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 sistema químico VetScan suprime cualquier resultado que sea afectado por más del 10% de interferencia por hemólisis, lipidemia o ictericia. En lugar del resultado, la tarjeta tendrá impreso “HEM”, “LIP” o “ICT” respectivamente.
- Los niveles de amilasa muy elevados (>9.000 U/l) tendrán un efecto significativo, superior al 10% de aumento, sobre el resultado del cloruro. El sistema VetScan no evalúa la concentración de amilasa de cada muestra.
- La prueba de potasio del sistema VetScan es un ensayo de piruvato quinasa (PK) / lactatodeshidrogenasa (LDH) acoplados. Por tanto, en casos de trauma muscular extremo o niveles muy elevados de creatina quinasa (CK), el VetScan puede recuperar un valor de potasio (K⁺) falsamente elevado. En casos como éste, los valores de recuperación de potasio inesperadamente altos deben confirmarse con otra metodología.

11. Valores esperados

Estos intervalos de referencia se proporcionan como una recomendación. Los intervalos de referencia más definitivos son aquellos establecidos para su población de pacientes. Estos resultados deben interpretarse conjuntamente con las señales clínicas del paciente. Los niveles de potasio y de proteína total determinados en plasma pueden diferir de los intervalos indicados a continuación.

Tabla 1: Intervalos de referencia VetScan

Analito	Canino	Felino	Equino
Alanina aminotransferasa (ALT)	10 – 118 U/l	20 – 100 U/l	5 – 20 U/l
Cloruro (CL ⁻)	106 – 120 mmol/l	112 – 126 mmol/l*	92 – 104 mmol/l
Creatinina (CRE)	0,3 – 1,4 mg/dl (27 – 124 µmol/l)	0,3 – 2,1 mg/dl (27 – 186 µmol/l)	0,6 – 2,2 mg/dl (53 – 194 µmol/l)
Glucosa (GLU)	60 – 110 mg/dl (3,3 – 6,1 mmol/l)	70 – 150 mg/dl (3,9 – 8,3 mmol/l)	65 – 110 mg/dl (3,6 – 6,1 mmol/l)
Potasio (K ⁺)	3,7 – 5,8 mmol/l	3,7 – 5,8 mmol/l	2,5 – 5,2 mmol/l
Sodio (Na ⁺)	138 – 160 mmol/l	142 – 164 mmol/l	126 – 146 mmol/l
Dióxido de carbono total (tCO ₂)	12 – 27 mmol/l	15 – 24 mmol/l	20 – 33 mmol/l
Nitrógeno ureico (BUN)	7 – 25 mg/dl (2,0 – 9,0 mmol/urea/l)	10 – 30 mg/dl (4,0 – 11,0 mmol/urea/l)	7 – 25 mg/dl (2,0 – 9,0 mmol/urea/l)

*El intervalo de referencia felino es únicamente para gatos adultos; los cachorros (gatos de menos de 6 meses de edad) pueden tener niveles de cloruro menores.

12. Características de eficacia

Linealidad

La química para cada analito es lineal a lo largo del intervalo dinámico enumerado a continuación cuando el analizador químico VetScan se opera de acuerdo con el procedimiento recomendado (consulte el manual del usuario del analizador químico VetScan).

Tabla 2: Intervalos dinámicos de VetScan

Analito	Unidades comunes	Unidades SI
Alanina aminotransferasa	5 – 2000 U/l	5 – 2000 U/l
Cloruro	80 – 135 mmol/l	80 – 135 mmol/l
Creatinina	0,2 – 20 mg/dl	18 – 1768 µmol/l
Glucosa	10 – 700 mg/dl	0,56 – 38,9 mmol/l
Potasio	1,5 – 8,5 mmol/l	1,5 – 8.5 mmol/l
Sodio	110 – 170 mmol/l	110 – 170 mmol/l
Dióxido de carbono total	5 – 40 mmol/l	5 – 40 mmol/l
Nitrógeno ureico	2 – 180 mg/dl	0,7 – 64,3 mmol/urea/l

Sensibilidad (límites de detección)

El límite inferior del intervalo informable (dinámico) para cada analito es: alanina aminotransferasa 5 U/l; cloruro 80 mmol/l; creatinina 0,2 mg/dl (18 µmol/l); glucosa 10 mg/dl (0,56 mmol/l); potasio 1,5 mmol/l; sodio 110 mmol/l; dióxido de carbono total 5 mmol/l y nitrógeno ureico 2,0 mg/dl (0,7 mmol urea/l).

Precisión

Se condujeron estudios de precisión de acuerdo con las recomendaciones NCCLS (CLSI) EP5-A⁴⁰ con modificaciones sobre la base de NCCLS (CLSI) EP18-P⁴¹ dispositivos usados en unidad. Los resultados para la precisión intraserial y total se determinaron mediante dos niveles de materiales de referencia disponibles comercialmente. Los estudios utilizaron múltiples instrumentos y dos lotes de rotores reactivos. Las pruebas de calcio, creatinina, glucosa, sodio y nitrógeno ureico fueron realizadas en un sitio; las de potasio y dióxido de carbono total se realizaron en dos sitios a lo largo de 20 días; la prueba de cloruro se realizó en dos sitios a lo largo de cinco días.

Los resultados de los estudios de precisión se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3: Precisión

Analito	Tamaño de la muestra	Intraserial	Total
Alanina aminotransferasa (U/l)			
<u>Control 1</u>	N = 80		
Media		21	21
DE		2,76	2,79
% VR		13,4	13,5
<u>Control 2</u>			
Media		52	52
DE		2,7	3,25
% VR		5,2	6,2
Cloruro (mmol/l)			
<u>Control 1</u>	N = 160		
Media		97,8	97,8
DE		1,63	1,74
% VR		1,7	1,7
<u>Control 2</u>			
Media		113,6	113,6
DE		1,97	2,22
% VR		1,7	2,0
Creatinina (mg/dl)			
<u>Control 1</u>	N=80		
Media		1,1	1,1
DE		0,14	0,14
% VR		12,5	13,1
<u>Control 2</u>			
Media		5,2	5,2
DE		0,23	0,27
% VR		4,4	5,2

Tabla 3: Precisión (continuación)

Analito	Tamaño de la muestra	Intraserial	Total
Glucosa (mg/dl)			
<u>Control 1</u>	N=80		
Media		66	66
DE		0,76	1,03
% VR		1,1	1,6
<u>Control 2</u>			
Media		278	278
DE		2,47	3,84
% VR		0,9	1,4
Potasio (mmol/l)			
<u>Control 1</u>	N = 80		
Media		6,7	6,7
DE		0,26	0,26
% VR		3,9	3,9
<u>Control 2</u>			
Media		4,3	4,3
DE		0,22	0,22
% VR		5,1	5,1
Sodio (mmol/l)			
<u>Control 1</u>	N = 80		
Media		148	148
DE		5,1	5,1
% VR		3,4	3,4
<u>Control 2</u>			
Media		118	118
DE		3,2	3,2
% VR		2,7	2,7
Dióxido de carbono total (mmol/l)			
<u>Control 1</u>	N = 80		
Media		19	19
DE		1,39	1,39
% VR		7,3	7,3
<u>Control 2</u>			
Media		9	9
DE		0,60	0,60
% VR		6,8	6,8
Nitrógeno ureico (mg/dl)			
<u>Control 1</u>	N = 80		
Media		19	19
DE		0,35	0,40
% VR		1,9	2,1
<u>Control 2</u>			
Media		65	65
DE		1,06	1,18
% VR		1,6	1,8

Correlación

Las muestras de sangre heparinizada y suero entero fueron obtenidas y analizadas en el analizador químico VetScan y por métodos de comparación. Las muestras de sangre entera se analizaron con el analizador químico VetScan en los sitios de campo, y las muestras séricas se analizaron con el analizador químico VetScan y mediante métodos de comparación. En algunos casos, se usaron muestras muy y poco enriquecidas para cubrir el rango dinámico. Se eligieron muestras que cumplieran los valores de distribución de las recomendaciones NCCLS EP9-A⁴². Las estadísticas de correlación representativas se muestran en la Tabla 4.

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

		Coefficiente de correlación	Pendiente	Intersección	N	Límites de la muestra
Alanina aminotransferasa (U/l)	Canino	1,00	0,95	0	22-180	10 – 1549
	Felino	0,98	0,92	0	21-55	27 – 99
	Equino	0,97	0,94	6	7-101	11 – 30
Cloruro (mmol/l)	Canino	0,935	0,875	15	38	78 – 132
	Felino	0,979	0,882	12	20	86 – 123
	Equino	NA	NA	NA	NA	NA
Creatinina (mg/dl)	Canino	0,99	1,00	0,0	22-180	0,6 – 10,6
	Felino	1,00	1,01	-0,1	21-55	0,3– 13,6
	Equino	0,95	1,00	-0,4	7-101	0,3 – 6,2
Glucosa (mg/dl)	Canino	0,96	1,01	-6	22-180	28 – 348
	Felino	1,00	0,97	3	21-55	52 – 607
	Equino	0,97	0,94	16	7-101	36 – 353
Potasio (mmol/l)	Canino	0,96	0,92	0,4	22-180	3,2 – 6,9
	Felino	0,91	0,92	0,5	21-55	2,7– 5,3
	Equino	0,84	0,97	0,1	7-101	1,8 – 4,6
Sodio (mmol/l)	Canino	0,89	0,97	4,8	22-180	118 – 183
	Felino	0,86	1,08	-12,2	21-55	122 – 166
	Equino	0,86	1,00	-0,01	7-101	110 – 166
Dióxido de carbono total (mmol/l)	Canino	0,81	0,86	3,5	22-180	6 – 23
	Felino	0,93	0,90	2,4	21-55	7 – 31
	Equino	0,97	0,93	2,1	7-101	9 – 39
Nitrógeno ureico (mg/dl)	Canino	1,00	0,98	-2	22-180	4 – 117
	Felino	1,00	1,07	-5	21-55	14 – 165
	Equino	1,00	0,95	-1	7-101	3 – 64

13. Bibliografía

1. Tonhazy NE, White NG, Umbreit WW. A rapid method for the estimation of the glutamic-aspartic transaminase in tissues and its application to radiation sickness. Arch Biochem 1950; 28: 36-42.
2. Reitman S, Frankel S. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases. Am J Clin Pathol 1957; 28: 56-63.
3. Murray RL. Alanine aminotransferase. In: Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation, 2nd ed. Kaplan LA, Pesce AP, eds. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 895-898.
4. Wróblewski F, LaDue JS. Serum glutamic-pyruvic transaminase in cardiac and hepatic disease. Proc Soc Exp Biol Med 1956; 91: 569-571.
5. Bergmeyer HU, M Horder. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 3. IFCC method for alanine aminotransferase. J Clin Chem Clin Biochem 1980; 18: 521-534.
6. Ono T, et al. A new enzymatic assay of chloride in serum. Clin Chem 1988; 34: 552-553.
7. Knoll VE, et al. Spezifische kreatininbestimmung im serum. Z Klin Chemi Clin Biochem. 1970; 8: 582-587.
8. Haeckel R, et al. Simplified determinations of the “true” creatinine concentration in serum and urine. J Cklin Chem Clin Biochem. 1980; 18: 385-394.
9. Moss GA, et al. Kinetic enzymatic method for determining serum creatinine. 1975; 21: 1422-1426.
10. Jaynes PK, et al. An enzymatic, reaction-rate assay for serum creatinine with a centrifugal analyzer. 1982; 28: 114-117.
11. Fossati P, et al. Enzymatic creatinine assay: a new colorimetric method based on hydrogen peroxide measurement. 1983; 29: 1494-1496.

12. Whelton A, et al. Nitrogen metabolites and renal function. In: Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd Ed. Burtis CA, Ashwood ER, eds. Philadelphia: W.B. Saunders Company. 1994: 1513-1575.
13. Folin O, et al. A system of blood analysis. J Biol Chem. 1919; 38: 81-110.
14. Somogyi M. A reagent for the copper-iodometric determination of very small amounts of sugar. J Biol Chem. 1937; 117: 771-776.
15. Nelson N, et al. A photometric adaption of the Somogyi method for the determination of glucose. J Biol. 1944; 153: 375-380.
16. Kaplan LA. Glucose. In: Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation, 2nd ed. Kaplan LA, AJ Pesce AJ, eds. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 850-856.
17. Berry MN, et al. Enzymatic determination of potassium in serum. Clin Chem 1989; 35: 817-820.
18. Van Pelt J. Enzymatic determination of sodium, potassium and chloride in serum compared with determination by flame photometry, coulometry and ion selective electrodes. Clin Chem 1994; 40: 846-847.
19. Hubl W, et al. Enzymatic determination of sodium, potassium and chloride in abnormal (hemolyzed, icteric, lipemic, paraproteinemic, or uremic) serum samples compared with indirect determination with ion selective electrodes. Clin Chem 1994; 40: 1528-1531.
20. Helgerson RC, et al. Host-guest Complexation. 50. Potassium and sodium ion-selective chromogenic ionophores. J Amer Chem Soc 1989; 111: 6339-6350.
21. Kumar A, et al. Chromogenic ionophere-based methods for spectrophotometric assay of sodium and potassium in serum and plasma. Clin Chem 1988; 34: 1709-1712.
22. Berry MN, et al. Enzymatic determination of sodium in serum. Clin Chem 1988; 34: 2295-2298.
23. Skeggs LT Jr. An automatic method for the determination of carbon dioxide in blood plasma. Am J. Clin Pathol 1960; 33: 181-185.
24. Korzun WJ, Miller WG. Carbon Dioxide. In: Clinical chemistry theory, analysis and correlation, 2nd ed. Kaplan LA, Pesce AJ, eds. St. Louis: The CV Mosby Company. 1989: 869-872.
25. Fales FW. Urea in serum, direct diacetyl monoxime method. In: Selected Methods of Clinical Chemistry, Vol 9. Faulkner WR, Meites S, eds. Washington, DC.: American Association for Clinical Chemistry. 1982: 365-373.
26. Van Slyke, et al. A permanent preparation of urease, and its use in the determination of urea. J Biol Chem, 1914; 19: 11-228.
27. Fawcett JK, et al. A rapid and Precise method for the determination of urea. J Clin Pathol, 1960; 13: 156-159.
28. Chaney, et al. Urea and ammonia determinations. Clin Chem, 1962; 8: 130-132.
29. Talke H, et al. Enzymatische harnstoffbestimmung in blut and serum im optischen Test nach Warburg. Klin Wochensch, 1965; 43: 174-175.
30. Hallett, et al. Reduced nicotinamide adenine dinucleotide-coupled reaction for emergency blood urea estimation. Clin Chim Acta, 1971; 35: 33-37.
31. Patton, et al. Spectrophotometric and kinetics investigation of the Berthelot reaction for the determination of ammonia. Anal Chem, 1977; 49: 464-469.
32. Sampson EJ, et al. A coupled-enzyme equilibrium method for the measuring urea in serum: optimization and evaluation of the AACC study group on Urea Candidate reference method. Clin Chem, 1980; 26: 816-826.
33. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Physician's office laboratory guidelines, tentative guideline, 2nd ed. NCCLS Document POL1-T2. Wayne, PA: NCCLS, 1992.
34. Scott MG. Electrolytes and Blood Gases. In: Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Burtis CA, Ashwood ER, eds. Philadelphia: WB Saunders Company. 1999: 1058-1059.
35. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Procedures for the handling and processing of blood specimens; tentative standard. NCCLS Document H18-A2. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
36. Overfield CV, et al. Glycosis: a re-evaluation of the effect on blood glucose. Clin Chim Acta 1972; 39:35-40.
37. Rehak NN, Chiang BT. Storage of whole blood: effect of temperature on the measured concentration of analytes in serum. Clin Chem 1988; 34-2111-4.
38. Scott MG. Electrolytes and Blood Gases. In: Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Burtis CA, Ashwood ER, eds. Philadelphia: WB Saunders Company. 1999: 1065-1066.
39. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Interference testing in clinical chemistry; proposed guideline. NCCLS Document EP7-A. Wayne, PA: NCCLS, 2002.
40. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices; approved guideline. NCCLS Document EP5-A. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
41. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Quality management for unit-use testing; proposed guideline. NCCLS Document EP18-A. Wayne, PA: NCCLS, 2002.
42. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Method comparison and bias estimation using patient samples; approved guideline. NCCLS Document EP9-A2. Wayne, PA: NCCLS, 2002.

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

Gennaio 2015
N. parte: 500-7134, Rev. E
© 2005, Abaxis, Inc., Union City, CA 94587, U.S.A.

1. Uso previsto

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

2. Sommario e spiegazione dei test

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

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

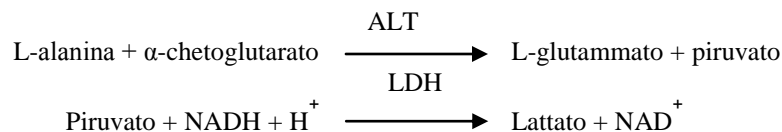
Come per ogni test diagnostico, prima della diagnosi definitiva è opportuno considerare tutte le altre procedure di analisi, incluso lo stato clinico del paziente.

3. Principio della procedura

Alanino aminotransferasi (ALT)

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

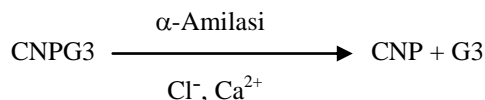
Il metodo sviluppato per l'uso sull'analizzatore VetScan è una modifica della procedura raccomandata dall'IFCC. In questa reazione, ALT catalizza il trasferimento di un amminogruppo da L-alanina ad α -chetoglutarato per formare L-glutammato e piruvato. La lattato deidrogenasi catalizza la conversione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



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

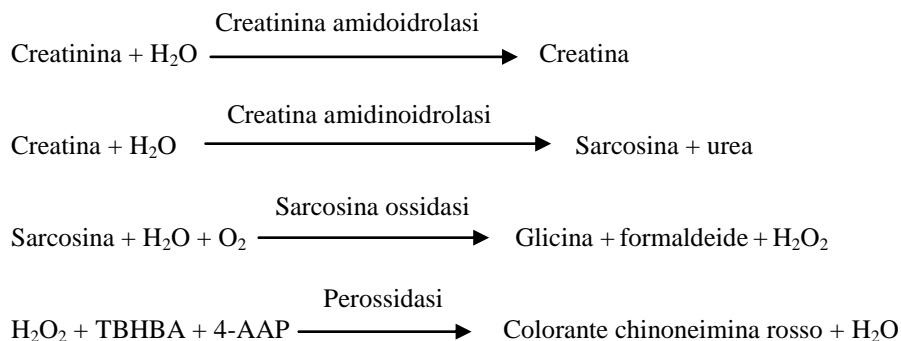
Cloro (Cl)

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



Creatinina (CRE)

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

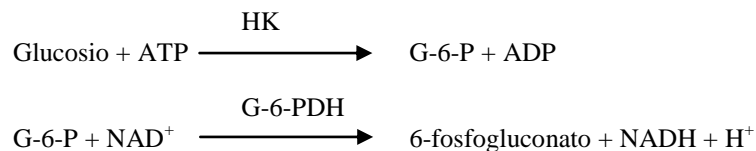


Per determinare la concentrazione di creatinina nel campione si utilizzano due cuvette. La creatina endogena viene misurata nella cuvetta in bianco, che viene sottratta dalla combinazione di creatina endogena e creatina formata dalle reazioni enzimatiche nella cuvetta del test. Una volta eliminata dai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

Glucosio (GLU)

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

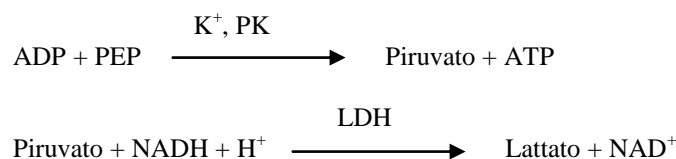
La reazione del glucosio con l'adenosina trifosfato (ATP), catalizzata dalla esochinasi (HK), produce glucosio-6-fosfato (G-6-P) e adenosina difosfato (ADP). La glucosio-6-fosfato deidrogenasi (G-6-PDH) catalizza la reazione di G-6-P in 6-fosfogluconato e la riduzione del nicotinammide adenin dinucleotide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



Potassio (K⁺)

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

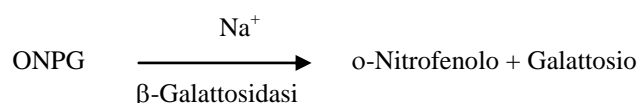
Nella reazione enzimatica accoppiata, la piruvato chinasi (PK) defosforila il fosfoenolpiruvato (PEP) formando piruvato. La lattato deidrogenasi (LDH) catalizza la trasformazione del piruvato in lattato. Al contempo, l'¹NADH viene ossidato in NAD⁺.



La velocità di cambiamento dell'assorbanza tra 340 nm e 405 nm è causata dalla trasformazione dell'¹NADH in NAD⁺ ed è direttamente proporzionale alla quantità di potassio presente nel campione.

Sodio (Na⁺)

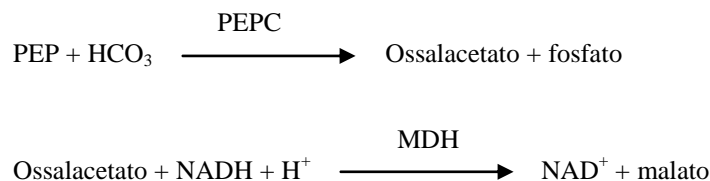
Sono stati sviluppati metodi colorimetrici ed enzimatici che consentono di misurare la concentrazione di sodio con i normali strumenti di chimica clinica.^{20, 21, 22} Nella reazione enzimatica Abaxis, la β-galattosidasi è attivata dal sodio nel campione. L'enzima attivato catalizza la reazione dell'*o*-nitrofenil--D-galattopiranoside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



Anidride carbonica totale (tCO₂)

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

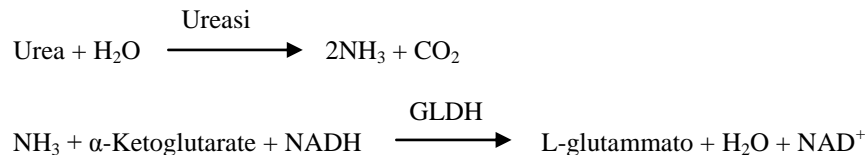
Nel metodo enzimatico, il campione viene innanzitutto alcalinizzato per convertire tutte le forme di anidride carbonica (CO₂) in bicarbonato (HCO₃⁻). Il fosfoenolpiruvato (PEP) e l'¹HCO₃⁻ reagiscono quindi formando ossalacetato e fosfato in presenza di fosfoenolpiruvato carbossilasi (PEPC). La malato deidrogenasi (MDH) catalizza la reazione di ossalacetato e nicotinammide adenin dinucleotide ridotta (NADH) in NAD⁺ e malato. La velocità di variazione nell'assorbanza dovuta alla conversione dell'¹NADH in NAD⁺ è direttamente proporzionale alla quantità di tCO₂ nel campione.



Azoto ureico (BUN)

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

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



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

4. Principio del test

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

5. Descrizione dei reagenti

Reagenti

Ogni rotore reagente Terapia intensiva VetScan Plus contiene microsfere secche di reagente specifico per il test (cfr. descrizione seguente). Ogni rotore comprende un reagente secco per campione bianco (costituito da tampone, tensioattivi, eccipienti e conservanti) da utilizzare per calcolare le concentrazioni di alanino aminotransferasi (ALT), cloro, glucosio, potassio, sodio, anidride carbonica totale e azoto ureico. Il rotore per la creatinina (CRE) include un campione bianco dedicato. Ciascun rotore contiene anche un diluente composto da tensioattivi e conservanti.

Avvertenze e precauzioni

- **Per uso diagnostico *in vitro***
- Il contenitore del diluente nel rotore reagente si apre automaticamente alla chiusura del cassetto dell'analizzatore. Non è possibile riutilizzare un rotore con contenitore del diluente aperto. Prima di chiudere il cassetto, assicurarsi che il campione o il controllo sia stato inserito nel rotore.
- I rotori reagente usati contengono fluidi organici animali. Manipolare e smaltire i rotori usati in conformità a prassi di laboratorio riconosciute.⁴⁵ Per istruzioni sulla pulizia e rimozione di sostanze a rischio biologico inavvertitamente versate, vedere il manuale d'uso dell'analizzatore chimico VetScan.
- I rotori reagente sono in plastica e possono incrinarsi o scheggiarsi se lasciati cadere. **Non** utilizzare **mai** un rotore eventualmente caduto in quanto può diffondere materiale a rischio biologico all'interno dell'analizzatore.
- Le microsfere di reagente possono contenere acidi o sostanze caustiche. Se rispetta le procedure raccomandate, l'operatore non viene a contatto con le microsfere di reagente. In caso di manipolazione delle microsfere (es. pulizia in seguito a caduta e incrinatura di un rotore reagente), evitare ingestione, contatto cutaneo e inalazione.
- I campioni con alte concentrazioni di amilasi possono fornire letture del cloro falsamente elevate.
- Tutti i reagenti contenuti nell'apposito rotore, se conservati nel modo sopra descritto, sono stabili sino alla data di scadenza stampata sul sacchetto del rotore. **Non** utilizzare un rotore dopo la data di scadenza. La data di scadenza è codificata anche nel codice a barre stampato sull'apposito anello. Se i reagenti sono scaduti, sul display dell'analizzatore di sangue intero VetScan viene visualizzato un messaggio di errore.

Istruzioni per la manipolazione del reagente

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

Conservazione

Conservare i rotori reagente nei sacchetti sigillati a 2–8 °C (36–46 °F). Non esporre i rotori, aperti o ancora sigillati, a luce solare diretta o temperature superiori a 32 °C (90 °F). I rotori reagente possono essere utilizzati fino alla data di scadenza indicata sulla confezione. La data di scadenza è codificata anche nel codice a barre stampato sull'apposito anello. In caso di reagenti scaduti, sul display dell'analizzatore chimico VetScan viene visualizzato un messaggio di errore.

Indicazioni di instabilità/deterioramento del rotore reagente

In caso di sacchetto strappato o altrimenti danneggiato, l'umidità può penetrare nel disco non utilizzato e alterare il comportamento del reagente. Non utilizzare rotori prelevati da sacchetti danneggiati.

6. Strumento

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

7. Raccolta e preparazione dei campioni

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

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

8. Procedura

Materiali forniti

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

Materiali necessari ma non forniti

- Analizzatore chimico VetScan

Parametri del test

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

Procedura del test

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

Calibrazione

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

Controllo di qualità

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

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

9. Risultati

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

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

10. Limiti della procedura

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

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

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

Interferenza

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

Effetti di sostanze endogene

- Gli agenti interferenti fisiologici (emolisi, ittero e lipemia) causano alterazioni nelle concentrazioni di alcuni analiti. Gli indici del campione sono stampati nella parte inferiore di ogni scheda dei risultati per informare l'operatore dei livelli di agenti interferenti presenti in ciascun campione. Il sistema chimico VetScan elimina gli eventuali risultati falsati da un'interferenza > 10% dovuta a emolisi, lipemia e ittero. In tal caso, sulla scheda dei risultati anziché i risultati verrà rispettivamente stampata la dicitura "HEM" (emolisi), "LIP" (lipemia) o "ICT" (ittero).
- Livelli di amilasi molto elevati (>9.000 U/L) hanno un effetto significativo (ossia un aumento superiore al 10%) sul risultato del cloro. La concentrazione di amilasi non viene valutata dal sistema VetScan per ogni campione.
- Il dosaggio del potassio nel sistema VetScan è un test combinato di piruvato chinasi (PK) / lattato deidrogenasi (LDH). In caso di trauma muscolare estremo o livelli molto elevati di creatina chinasi (CK), il sistema VetScan può pertanto recuperare un valore di potassio (K⁺) falsamente elevato. In tal caso, il recupero di un livello inteso di potassio elevato deve essere confermato utilizzando una metodologia diversa.

11. Valori attesi

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

Tabella 1: Intervalli di riferimento VetScan

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

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

12. Caratteristiche prestazionali

Linearità

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

Tabella 2: Range dinamici VetScan

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

Sensibilità (limiti di rilevazione)

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

Precisione

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

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

Tabella 3: Precisione

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

Tabella 3: Precisione (cont.)

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

Correlazione

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

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

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

13. Bibliografia

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

17. Berry MN, et al. Enzymatic determination of potassium in serum. *Clin Chem* 1989; 35: 817-820.
18. Van Pelt J. Enzymatic determination of sodium, potassium and chloride in serum compared with determination by flame photometry, coulometry and ion selective electrodes. *Clin Chem* 1994; 40: 846-847.
19. Hubl W, et al. Enzymatic determination of sodium, potassium and chloride in abnormal (hemolyzed, icteric, lipemic, paraproteinemic, or uremic) serum samples compared with indirect determination with ion selective electrodes. *Clin Chem* 1994; 40: 1528-1531.
20. Helgerson RC, et al. Host-guest Complexation. 50. Potassium and sodium ion-selective chromogenic ionophores. *J Amer Chem Soc* 1989; 111: 6339-6350.
21. Kumar A, et al. Chromogenic ionophore-based methods for spectrophotometric assay of sodium and potassium in serum and plasma. *Clin Chem* 1988; 34: 1709-1712.
22. Berry MN, et al. Enzymatic determination of sodium in serum. *Clin Chem* 1988; 34: 2295-2298.
23. Skeggs LT Jr. An automatic method for the determination of carbon dioxide in blood plasma. *Am J. Clin Pathol* 1960; 33: 181-185.
24. Korzun WJ, Miller WG. Carbon Dioxide. In: *Clinical chemistry theory, analysis and correlation*, 2nd ed. Kaplan LA, Pesce AJ, eds. St. Louis: The CV Mosby Company. 1989: 869-872.
25. Fales FW. Urea in serum, direct diacetyl monoxime method. In: *Selected Methods of Clinical Chemistry*, Vol 9. Faulkner WR, Meites S, eds. Washington, DC.: American Association for Clinical Chemistry. 1982: 365-373.
26. Van Slyke, et al. A permanent preparation of urease, and its use in the determination of urea. *J Biol Chem*, 1914; 19: 11-228.
27. Fawcett JK, et al. A rapid and Precise method for the determination of urea. *J Clin Pathol*, 1960; 13: 156-159.
28. Chaney, et al. Urea and ammonia determinations. *Clin Chem*, 1962; 8: 130-132.
29. Talke H, et al. Enzymatische harnstoffbestimmung in blut and serum im optischen Test nach Warburg. *Klin Wochensch*, 1965; 43: 174-175.
30. Hallett, et al. Reduced nicotinamide adenine dinucleotide-coupled reaction for emergency blood urea estimation. *Clin Chim Acta*, 1971; 35: 33-37.
31. Patton, et al. Spectrophotometric and kinetics investigation of the Berthelot reaction for the determination of ammonia. *Anal Chem*, 1977; 49: 464-469.
32. Sampson EJ, et al. A coupled-enzyme equilibrium method for the measuring urea in serum: optimization and evaluation of the AACC study group on Urea Candidate reference method. *Clin Chem*, 1980; 26: 816-826.
33. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Physician's office laboratory guidelines, tentative guideline, 2nd ed. NCCLS Document POL1-T2. Wayne, PA: NCCLS, 1992.
34. Scott MG. Electrolytes and Blood Gases. In: *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. 3rd ed. Burtis CA, Ashwood ER, eds. Philadelphia: WB Saunders Company. 1999: 1058-1059.
35. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Procedures for the handling and processing of blood specimens; tentative standard. NCCLS Document H18-A2. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
36. Overfield CV, et al. Glycolysis: a re-evaluation of the effect on blood glucose. *Clin Chim Acta* 1972; 39:35-40.
37. Rehak NN, Chiang BT. Storage of whole blood: effect of temperature on the measured concentration of analytes in serum. *Clin Chem* 1988; 34:2111-4.
38. Scott MG. Electrolytes and Blood Gases. In: *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. 3rd ed. Burtis CA, Ashwood ER, eds. Philadelphia: WB Saunders Company. 1999: 1065-1066.
39. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Interference testing in clinical chemistry; proposed guideline. NCCLS Document EP7-A. Wayne, PA: NCCLS, 2002.
40. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices; approved guideline. NCCLS Document EP5-A. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
41. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Quality management for unit-use testing; proposed guideline. NCCLS Document EP18-A. Wayne, PA: NCCLS, 2002.
42. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Method comparison and bias estimation using patient samples; approved guideline. NCCLS Document EP9-A2. Wayne, PA: NCCLS, 2002.