



Högskolan
Kristianstad

Högskolan Kristianstad
291 88 Kristianstad
044 250 30 00
www.hkr.se

**Självständigt arbete (examensarbete), 15 hp,
Kandidatexamen i biomedicinsk laboratorievetenskap
VT 2021
Fakulteten för naturvetenskap**

Jämförelse av kemiinstrument och validering av referensintervall hos hund och katt

Johanna Borg

Populärvetenskaplig sammanfattning

Klinisk kemi innefattar många olika analyser som kan utföras på olika provmaterial som urin, blod eller saliv. Dessa analyser är väldigt användbara inom sjukvård och kan ge övergripande information om patienten. Fokus i denna studie är analyser av blod där koncentrationen av olika parametrar bestäms. Parametrar är olika typer av molekyler såsom proteiner, enzymer, metaller och så vidare, exempelvis glukos, kolesterol och järn. Dessa parametrar har olika uppgifter och funktioner. För att kunna tolka dessa resultat används referensintervall som visar vilka värden som är normala i friska individer. Det intressanta är att se ifall en patient har värden som avviker från referensintervallet. Veterinärer kan med hjälp av dessa analyser ställa diagnos och följa progressionen av behandling och sjukdom eller till och med förutse risker.

På så kallade kemiinstrument utförs dessa analyser på ett automatiserat sätt. Detta möjliggör automatisering av analysens olika steg, som utförs av instrumentet. Vid analys används olika metoder beroende på vilken parameter som undersöks. Djursjukhuset, AniCura, i Hässleholm har köpt in ett nytt kemiinstrument, Indiko Plus, som ska ersätta deras nuvarande instrument, Cobas C111. Deras patienter består av hundar och katter och i laboratoriet analyseras varje dag cirka 120 kemianalyser, vilket motsvarar ungefär 40 – 60 blodprov. Med Indiko Plus tillkommer 8 nya analyser, 46 platser för prover på instrumentet, ökad analyskapacitet och automatisk överföring av resultat. Företaget som tillverkat Indiko Plus, Thermo Fisher, tillhandahåller även med referensintervall för hund och katt.

Syftet med denna studie var att jämföra instrumenten och ta fram ett nytt referensintervall på Indiko Plus för hund och katt som jämfördes med referensintervallet från tillverkaren, samt att verifiera precision och studera hur bra koncentrationen av en parameter (ALP) kan bestämmas av mätvärden, så kallat linjäritet, på Indiko Plus. Jämförelsen togs fram med hjälp av värden från patientblodprover av 20 hundar och 20 katter som mättes på båda instrument. För att ta fram referensintervall användes blodprov från 23 friska hundar och 9 friska katter som analyserades på Indiko Plus. Precisionen och linjäritet på Indiko Plus kontrollerades med hjälp av inköpt kontrollmaterial som analyserades för de olika parametrarna respektive ALP.

Ett statistiskt test visade att 9 av 13 analyser skiljer sig mellan instrumenten. Vid sådana statistiska tester innebär det inte alltid att en statistisk skillnad innebär en skillnad praktiskt. Troliga orsaker till att så pass många analyser skiljer sig är instrumentens åldersskillnad, instrumentens olika metoder och framför allt tidsskillnaden mellan mätningarna av blodprov på Cobas och Indiko. Referensintervall för både hund och katt togs fram och jämfördes med

tillverkarens intervall. Skillnaderna var inte stora, men det är ändå viktigt att respektive veterinärklinik/djursjukhus tar fram eget referensintervall. Det är viktigt att referensintervallet motsvarar den population som referensintervallet används till, eftersom intervallet visar de friska värdena. För att få ett noggrannare referensintervall ska olika kriterier (ålder, kön, ras, plats) som motsvarar patienter på AniCura och studien bör upprepas med en större grupp (minst 120 individer). Precisionen av Indiko Plus blev godkänd mellan analyser men sämre mellan dagar. Detta berodde troligen på avvikande värden under dag 1 i mellan dagar-precisionen. Det som kan ha påverkat detta resultat är troligen hanteringen av kontrollmaterialet som är känsligt mot ljus, temperaturändringar och luftexponering. Linjäriteten av ALP analys blev icke-linjär, vilket är ett dåligt resultat. Detta resultat beror troligen inte på ett problem med instrumentet utan fel på laborieutrustning och därför bör linjäriteten göras om.

Författare

Johanna Borg

Titel

Jämförelse av kemiinstrument och validering av referensintervall hos hund och katt

Engelsk titel

Comparison of chemical instruments and validation of reference intervals in dogs and cats

Handledare

Prof. Celia Cabaleiro Lago, Högskolan Kristianstad
Leg. BMA Sandra Fagerlund, Veterinärmedicin, AniCura Hässleholm

Examinator

Prof. Leg BMA Ann-Sofi Rehnstam-Holm, Högskolan Kristianstad

Sammanfattning

Klinisk kemiska analyser har hög klinisk relevans. I serum/plasma kan olika parametrar kvantifieras. Dessa parametrar kan vara proteiner, enzymer, joner, metaller, lipider och kolhydrater. Med hjälp av referensintervall kan veterinärer ställa diagnos, följa behandling och sjukdomsförlopp. Parametrar detekteras med olika analysprinciper/metoder; kolorimetri, immunturbidimetri, enzymatisk metod och potentiometri. Djursjukhuset, AniCura, i Hässleholm mottagas både hundar och katter. Cirka 120 kemianalyser analyseras varje dag. AniCura har köpt in ett nytt våtkemiiinstrument, Indiko Plus, som ska ersätta Cobas C111. Med Indiko Plus tillkommer fler provpositioner, 8 nya analyser, ökad kapaciteten och underlättad användning.

Syftet med denna studie var att jämföra instrumenten och ta fram eget referensintervall som jämfördes med referensintervall framtaget av Thermo Fisher. Verifiering av det nya instrumentet genomfördes med precisionsstudie och linjäritetsstudie. Provtagning på hundar och katter utfördes av personal på AniCura. Jämförelsen gjordes med patientprover och referensintervall togs fram med hjälp av prover från friska hundar och katter.

Jämförelsen visade att 9 av 13 analyser hade statistisk signifikant skillnad. Orsaken till det beror troligen på skillnaden av reagens, instrumentens ålder och tid mellan mätningar. Ett nytt referensintervall utarbetades och skiljde sig inte mycket från Thermo Fishers intervall. Vidare validering på grund av liten population rekommenderades. Precisionen för Indiko Plus blev godkänd. Linjäriteten blev icke linjär och berodde troligen på en dålig pipett och bör göras om.

Ämnesord

Indiko Plus, Cobas C111, Klinisk Kemi, Hund, Katt

Author

Johanna Borg

Title

Comparison of chemical instruments and validation of reference intervals in dogs and cats

Supervisor

Prof. Celia Cabaleiro Lago, University of Kristianstad
Leg. BMA Sandra Fagerlund, AniCura Hässleholm

Examiner

Prof. Leg BMA Ann-Sofi Rehnstam-Holm, University of Kristianstad

Abstract

Clinical chemical analyzes has high clinical relevance. In serum/plasma, different parameters can be quantified. Parameters can be proteins, enzymes, ions, metals, lipids, and carbohydrates. With reference intervals, veterinarians can set diagnosis, follow treatment and development of the disease. Parameters are detected with different analysis principles/methods; colorimetry, immunoturbidimetry, enzymatic method and potentiometry. The animal hospital, AniCura, in Hässleholm accept dogs and cats. About 120 chemical analyzes are analyzed every day. AniCura purchased a new instrument, Indiko Plus, which will replace Cobas C111. Indiko Plus provide, more sample positions, 8 new analyzes, increased capacity, and facilitated use.

The purpose of this study was to compare the instruments and produce a new reference interval which was compared to the reference interval provided by Thermo Fisher. To verify Indiko Plus, a precision and linearity study were conducted. Blood sampling of dogs and cats was performed by staff at AniCura. The comparison was made with patient samples and the reference intervals were obtained using samples from healthy animals.

The comparison showed 9 of 13 analyzes had a statistically significant difference. The reason for this is probably due to the difference in reagents, the age of the instruments and the time between measurements. A new reference interval was developed and did not differ much from the Thermo Fisher interval. Further validation due to low population was recommended. The precision for Indiko Plus was approved. The linearity study shows not linear trend but was likely due to a bad pipette and should be redone.

Keywords

Indiko Plus, Cobas C111, Clinical Chemistry, Dog, Cat

Innehåll

1. Inledning.....	7
1.1 Klinisk kemi.....	7
1.1.1 Proteiner & Enzymer.....	7
1.1.2 Joner & Metaller.....	8
1.1.3 Lipider & Kolhydrater.....	9
1.1.4 Övriga parametrar.....	9
1.1.5 Analysprincip.....	10
1.2 Instrument.....	11
1.2.1 Indiko Plus.....	12
1.2.2 Cobas C111.....	14
2. Syfte.....	14
3. Material & Metod.....	14
3.1 Urval & Material.....	14
3.2 Preanalys & Analys.....	15
3.3 Etik, Miljö & Säkerhet.....	16
3.4 Statistik.....	16
4. Resultat.....	17
4.1 Jämförelse.....	17
4.2 Referensintervall.....	18
4.3 Precision.....	20
4.4 Linjäritet (ALP analys).....	22
5. Diskussion.....	23
5.1 Felkällor pre- & post-analys.....	23
5.2 Jämförelse Indiko Plus & Cobas C111.....	24
5.3 Referensintervall hund & katt.....	26
5.4 Precision av Indiko Plus.....	27
5.5 Linjäritet av ALP analys på Indiko Plus.....	29
6. Slutsats.....	30
Tackord.....	30
Referenser.....	31
Övriga referenser.....	36
Bilagor.....	37

1. Inledning

1.1 Klinisk kemi

Under de senaste 50 åren har klinisk kemi och tekniken allmänt gjort stora framgångar (Delanghe, 2017). Klinisk kemi är ett område inom kemi som fokuserar på analyser av många typer av material som urin, serum, plasma eller saliv (Kessler, 2016). Klinisk kemiska analyser är av hög klinisk relevans och kan ge övergripande information om patientens tillstånd (Shcharbin et al., 2014). Metoder som används inom klinisk kemi är känsliga och specifika samtidigt som analys svar erhålls snabbt (Delanghe, 2017). Dessa analyser är viktiga för att ställa diagnos, följa progressionen av behandling och sjukdom eller till och med förutse risker (Kessler, 2016).

Det finns många olika parametrar i serum och plasma som kan kvantifieras och används för diagnostisering. Dessa parametrar är olika protein, joner, metaller, lipider eller kolhydrater. Majoriteten av parametrarna är gemensamma för människor och djur. Det finns några parametrar som är specifika för endast djur. Vidare finns det parametrar som är artspecifika, exempelvis hundspecifikt CRP och kattspecifikt SAA (Kjelgaard-Hansen et al., 2003; Christensen et al., 2012). I följande avsnitt redogörs de parametrar som används i denna studie.

1.1.1 Proteiner & Enzymer

Albumin har som funktion bland annat att binda toxiska tungmetaller och upprätthålla det osmotiska trycket (Backman-Johansson et al., 2018). Ökad koncentration av albumin kan tyda på uttorkning och sänkt koncentration kan ses vid till exempel leverpåverkan. C-reaktivt protein (CRP) är ett akutfasprotein som är hundspecifikt (Kjelgaard-Hansen et al., 2003). Hundars CRP-molekyl skiljer sig något i uppbyggnad från människor, vilket kräver metoder som är specifika för hundar. I normalt tillstånd är koncentrationen av CRP låg och ökar vid inflammationer eller vävnadsskador. Katternas motsvarighet till CRP är akutfasprotein serum Amyloid A (SAA) och är kattspecifikt (Christensen et al., 2012). Totalprotein är den totala koncentrationen av plasmaproteiner, bland annat albumin, immunglobuliner och fibrinogen (Cao et al., 2007). Förhöjt totalprotein är sällsynt eftersom när immunglobuliner ökar leder till att albumin sänks och den totala

koncentrationen blir därför oförändrad (Burtis & Ashwood, 2001; Thomas, 1998). Sänkt totalprotein kan bero på sänkt albumin eller felaktig antikroppssyntes. Alkalisk fosfatas (ALP) är ett enzym och återfinns med högst koncentration i osteoblaster, levern och gallgångsepitel (Backman-Johansson et al., 2018). Högt ALP kan visa på hinder i gallgången, ökad aktivitet av osteoblast och leversjukdom. Alaninaminotransferas (ALT) och aspartataminotransferas (AST) är enzymer som katalyserar reaktioner med aminosyror. Dessa aminotransferaser förekommer främst i levern. Höga halter uppstår vid leverskador, men kan ibland härledas till skador i skelett- och hjärtmuskulatur. Kreatininkinasa (CK) påträffas huvudsakligen i musklerna. Förhöjda värden av CK kan bero på muskelskador eller muskelsjukdomar, sänkta värden kan bland annat bero på metastas i levern. Enzymet gamma-glutamyltransferas (GGT) finns framför allt i levern, njurarna och bukspottkörteln. Sjukdomar i levern och bukspottkörteln, läkemedel eller övervikt kan resultera i högt GGT.

1.1.2 Joner & Metaller

Katjonen kalcium påträffas främst i skelettet och ingår i många olika processer såsom blodets koagulation och muskelkontraktioner (Backman-Johansson et al., 2018). Kalciumhalten kan vara svårbedömd och estimeras i förhållande till albuminhalten eftersom ca 40 % av kalcium är proteinbundet. Hyperkalcemi beror vanligast på tumörer/cancer men även vid ökat flöde av kalcium från exempelvis skelett. Hypokalcemi kan bero på många faktorer, bland annat D-vitaminbrist, magnesiumbrist eller njurinsufficiens. Fosfat finns i störst andel i skelettet men även intracellulärt. Hyperfosfatemi förekommer vid njursvikt, minskad glomerulär filtrationshastighet (GFR) och acidosis. Hypofosfatemi kan förekomma vid allvarlig D-vitaminbrist, kräkningar eller diarré. Klorid är den mest förekommande anjonen i plasma som upprätthåller katjon- och anjonbalansen i celler. Förhöjd kloridhalt kan orsakas av dehydrering och sänkt klorid tvärtom. Den mest förekommande katjonen i plasma är natrium som är viktigt för membranpotentialen i celler. Hypernatremi kan bero på många faktorer som exempelvis vattenförlust, njursjukdom och diabetes insipidus. Hyponatremi kan orsakas av njurinsufficiens, hjärtsvikt och leverinsufficiens. Kalium är den mest förekommande katjonen intracellulärt som upprätthåller membranpotentialen och den intracellulära volymen. Hyperkalemi kan bero på acidosis, vävnadsskador (ex. cytostatika) och krampanfall. Hypokalemi kan bero på långvarig svält, diarré och kräkningar. Järn

ingår i viktiga processer som att transportera hemoglobin och elektroner (Bottari et al., 2016). Sänkt nivå av järn kan bero på järnbrist, inflammation eller njursjukdom (Torrente et al., 2016; Javard et al., 2017).

1.1.3 Lipider & Kolhydrater

Kolesterol är en fettsyra som är en viktig beståndsdel i alla cellmembran och i syntes av steroida hormoner (Arya et al., 2008). Höga halter av kolesterol kan vara tecken på exempelvis hjärt-kärlsjukdomar, kranskärlsjukdomar eller stroke. Gallsyror syntetiseras i levern och utsöndras i gallan (Giaretta et al., 2018; Deitz et al., 2015). Förhöjd nivå av gallsyror ses i samband med leversjukdom eller vid gallstas/gallobstruktion. Triglycerider, som består av glycerolestrar och fettsyror, bidrar till 95% av fettförvaringen (Backman-Johansson et al., 2018). Höga värden av triglycerider kan vara tecken på övervikt, insulinresistens/hyperinsulin (diabetes mellitus) och även sjukdom i flertalet olika organ. Glukos är en viktig energikälla som utnyttjas i många sammanhang som i erythrocyter, leukocyter och även i glykolysen. Hyperglykemi ses vid insulinbrist/insulinresistens, diabetes mellitus, överskott av vissa hormoner (ex. adrenalin) och hjärtinfarkt. Hypoglykemi kan uppstå vid överskott av insulin, insulinproducerande tumörer och endokrina störningar. Fruktosamin är en produkt av reaktion mellan glukos och plasmaprotein (Reusch et al., 2002). Därför beror koncentrationen av fruktosamin på mängden glukos och plasmaprotein i serum. Det används ofta som indikator vid diabetes hos både hundar och katter. Förhöjt värde kan orsakas av hyperglykemi och sänkt värde av hypoalbuminemia (Kovalik et al., 2012).

1.1.4 Övriga parametrar

Vid muskelkontraktioner utsöndras kreatinin och används oftast för att undersöka GFR (Backman-Johansson et al., 2018). Högt kreatinin kan bero på njursjukdomar med lågt GFR och lågt kreatinin kan exempelvis bero på undernäring eller reumatoid artrit. Urea är en kväveprodukt som utsöndras vid nedbrytning av aminosyror. Förhöjt urea kan bero på försämrad utsöndring, nedsatt glomerulär filtration eller ökad proteintillförsel som exempelvis proteinrik kost. Sänkt urea kan bero på ökad urinutsöndring eller ökad glomerulär filtration. Bilirubin förekommer mycket i levern och bildas exempelvis vid nedbrytning av hemoglobin. Höga halter bilirubin förekommer vid leverpåverkan och nedbrytning av erythrocyters hemoglobin.

1.1.5 Analysprincip

De huvudsakliga analysprinciperna/metoder som används är kolorimetri, immunturbidimetri, enzymatisk metod och potentiometri (tabell 1). Signaler som bildas under analys, förutom vid potentiometri, detekteras med hjälp av spektrofotometri (absorbans, A) vid olika våglängder (nanometer, nm) beroende på parameter. Med kolorimetri kan koncentrationen av olika parametrar i ett prov kvantifieras, exempelvis albumin och bilirubin (Anzalone et al., 2013; Monogarova et al., 2018). Principen bygger på förmågan av ett komplex eller produkt av reaktion att absorbera ljus vid en eller flera specifika våglängder. Absorbansen i provet är proportionellt mot koncentrationen av parametern som beräknas enligt Lambert-Beers lag. Immunturbidimetri bygger på reaktion med antikroppar som detekterar antigen. (Jin et al., 2012; Mahmodi Arjmand et al., 2018). Antikroppar binder till antigenet, parametern, i provet och bildar komplex. Bildningen av detta komplex leder till en ändring av provets turbiditet. Turbiditeten mäts vid specifika våglängder och är proportionell mot koncentrationen av parametern, exempelvis CRP eller SAA. Vid enzymatisk metod omvandlas substrat till en produkt, exempelvis att parametern katalyserar substratet eller att parametern är substratet i en enzymatisk metod (Schumann et al., 2002). Produkten orsakar en ändring av absorbansen som korrelerar med koncentrationen av parametern, exempelvis urea, CK och ALT (Mahmodi Arjmand et al., 2018; Schumann et al., 2002). Potentiometri utförs med potentiometer som består av två delar; referenslösning och jonselektiva elektroder (ISE) som detekterar joner, exempelvis Na, Cl och K (Bakker & Pretsch, 2007). Potentialskillnaden mäts då över ett membran och från det beräknas koncentrationen av parametern i provet

Tabell 1: Analysprincip för respektive parameter.

Analysprincip/Metod	Parameter
Kolorimetri	Albumin
	Bilirubin
	Fosfat
	Fruktosamin
	Glukos
	Järn

	Kalcium
	Kreatinin
	Totalprotein
	Triglycerider
Enzymatisk metod	ALP
	ALT
	AST
	CK
	Gallsyror
	GGT
	Kolesterol
	Urea
Immunturbidimetri	CRP
	SAA
Potentiometri	Cl ⁻
	K ⁺
	Na ⁺

1.2 Instrument

På djursjukhuset, AniCura, i Hässleholm består patienterna av hundar och katter. Antalet kemianalyser som genomförs på plasma/serum varje dag är i genomsnitt 120 analyser. Det utgör cirka 40 – 60 blodprov som inkommer till laboratoriet under dagarna. AniCura har köpt in ett nytt våtkemiinstrument, Indiko Plus, som ska ersätta det äldre, Cobas C111, instrumentet som köptes in 2013. På Cobas C111 utförs analysmetoderna albumin, ALP, ALT, kalcium, kreatinin, fosfat, totalprotein, urea, klorid, natrium, kalium, gallsyror, glukos, CRP och SAA. I samband med Indiko Plus kommer analyserna AST, bilirubin, kolesterol, CK, GGT, järn, triglycerider och fruktosamin att tillkomma.

Både Indiko Plus och Cobas C111 är våtkemiinstrument och bygger på samma princip. Våtkemiinstrument använder sig av olika lösningar, reagens, kalibratorer och kontroller, som är i vätskeform. I instrumenten finns det utöver lösningarna även centrifug, inkubator och spektrofotometer som möjliggör automatisering av alla steg för en analysmetod.

Bytet av instrument innebär även till viss del byte av reagens, kalibratorer och kontroller. Till Cobas användes reagens från Roche Diagnostics som nu ersätts med reagens tillverkade av Thermo Scientific. Dock finns det några undantag där AniCura köper in lösningar från andra företag som fortsätter att användas på Indiko Plus. Det gäller analyserna CRP och gallsyror. Bytet av reagens innebär att metoderna mellan instrumenten kan skilja sig. Det som kan skilja då är exempelvis pH-värdet, innehåll och koncentrationen av ämnen i reagenserna. Men analysprinciperna för respektive parameter är samma på båda instrument.

1.2.1 Indiko Plus

Indiko Plus Clinical Chemistry Analyzer från Thermo Fisher kan utföra cirka 30 olika kemianalyser på serum/plasma som exempelvis kalcium, albumin, urea och glukos (Thermo Fisher Scientific, 2018). 23 av dessa analyser kommer att användas av AniCura. Instrumentet använder engångskyvetter och tre olika typer av rack med 9 – 18 positioner beroende på ändamål. Maximalt 6 rack kan användas samtidigt och olika analyser kan analyseras parallellt. Under tiden instrumentet arbetar kan nya prover, kyvetter, reagens och så vidare fyllas på utan att det stannar processen. Indiko Plus kan analysera upp till 350 analyser/timme och tar samtidigt upp en liten plats. Med instrumentet medföljer mjukvara som möjliggör automatisk överföring av resultat till journalsystemet samt en översikt via skärm. Thermo Fisher har tagit fram egna veterinärspecifika referensvärden för hund och katt, dock på Cobas 501 (tabell 2) (Cornell University, College of Veterinary Medicine, 2017).

Tabell 2: Referensintervall för hund och katt framtaget av Thermo Fisher (ovan) och för Cobas C111 (nedan).

	Hund	Katt
Albumin (g/l)	31 - 42	28 - 42
	30 - 45	33 - 43
ALP (U/l)	17 - 111	13 - 83
	3 - 88	13 - 93
ALT (U/l)	20 - 98	35 - 176
	9 - 96	23 - 98

AST (U/l)	14 - 51 -	15 - 44 -
Bilirubin (µmol/l)	0 - 3,4 -	0 - 3,4 -
CK (U/l)	48 - 261 -	73 - 388 -
CRP (mg/l)	- <10	- -
Fosfat (mmol/l)	0,94 - 1,68 0,7 - 1,9	0,9 - 2,0 1,0 - 3,1
Gallsyror (µmol/l)	- <10	- <20
GGT (U/l)	0 - 6 -	0 - 2 -
Glukos (mmol/l)	3,50 - 6,55 3,7 - 6,6	3,55 - 8,00 3,4 - 8,5
ISE Cl (mmol/l)	105 - 116 105 - 119	113 - 123 110 - 120
ISE K (mmol/l)	4,1 - 5,6 3,4 - 4,8	4,0 - 5,9 2,8 - 4,8
ISE Na (mmol/l)	145 - 153 138 - 149	151 - 158 140 - 154
Järn (µmol/l)	14,0 - 38,4 -	9,5 - 26,0 -
Kalcium (mmol/l)	2,3 - 2,8 2,4 - 3,0	2,3 - 2,7 2,3 - 2,9
Kolesterol (mmol/l)	3,6 - 8,6 -	1,7 - 8,2 -
Kreatinin (µmol/l)	53 - 124 42 - 110	53 - 177 60 - 146

Totalprotein (g/l)	53 - 70	63 - 83
	49 - 71	57 - 77
Triglycerider (mmol/l)	0,25 - 1,75	0,28 - 1,50
	-	-
Urea (mmol/l)	3,6 - 11,4	5,7 - 12,9
	2,7 - 8,7	5,7 - 10,9

1.2.2 Cobas C111

Cobas C111 Analyser från Roche Diagnostics tar upp liten plats i labbet och kan utföra cirka 25 kemianalyser, vilket är något mindre än Indiko Plus (Bowling & Katayev, 2010). Cobas C111 har 8 provpositioner och endast ett prov i taget analyseras, innan nästa påbörjas. Prover, kontroller, kalibratorer och övriga förbrukningsmaterial kan endast laddas när instrumentet har gått ner i standby. Samtidigt har detta instrument en lägre kapacitet och rekommenderas enligt Bowling och Katayev (2010) att användas i laborationer med kapacitet på mindre än 60 prov per dag. Mjukvara finns men har av olika anledningar inte kopplats ihop med journalsystemet. Vilket innebär framför allt att personal skriver in alla resultat manuellt i journalsystemet. Referensintervallet tillhörande Cobas C111 är framtaget av Hallands Djursjukhus i Slöinge (tabell 2).

2. Syfte

Syftet med denna studie var att jämföra om mätvärden var reproducerbara mellan instrumenten Indiko Plus och Cobas C111. Syftet var också att ta fram eget referensintervall på Indiko Plus för hund och katt samt att verifiera det nya våtkemiinstrumentet Indiko Plus med avseende på precision och linjäritet av ALP analysen.

3. Material & Metod

3.1 Urval & Material

Jämförelsen mellan instrumenten studerades med hjälp av patientblodprover från 20 hundar och 20 katter. Referensintervallet för Indiko Plus validerades med blodprov från

23 friska hundar och 9 friska katter. Precisionsstudien utfördes på kontrollmaterial i två koncentrationsnivåer, Fructosamine Control Set Control 1 & 2, Sentinel Diagnostics och MAS[®]ChemTRAK·H 1 & 2, Thermo Scientific. Linjäritet av ALP utfördes på Abtrol, Thermo Scientific vilket är en kontroll med hög koncentration av ALP, 243 U/l.

3.2 Preanalys & Analys

Reagenskalibrering utfördes vid första uppstart av Indiko Plus och därefter vid nytt LOT-nr på reagens. Kontrollmätningar genomfördes i samband med kalibrering, nytt reagens och ungefär en gång i veckan. Varje dag vid uppstart av instrumentet analyseras en intern kontroll bestående av plasma från blodgivare för en analys med god reproducerbarhet. Mätvärden för provet jämförs med tidigare uppmätta värden för att påvisa instrumentets optimala funktion.

Provtagning av blodprov från patienter och friska djur utfördes av erfarna djursjukskötare och djurvårdare. Två typer av rör användes, små och stora, beroende på djurets storlek. De små plasmarören Multivette[®] Sarstedt, Tyskland, är tillsatta med litium-heparin och rymmer cirka 600 µl blod. De stora plasmarören BD Vacutainer[®], Storbritannien, är tillsatta med litium-heparin med gel och rymmer 3 mL blod. Serumrören BD Vacutainer[®], Storbritannien, innehåller koagulationsaktivator och gel som rymmer 3,5 mL blod.

Alla blodprov centrifugerades i 2500 rpm, Sigma 2–7 Swing-out rotor 11071, under 10 minuter. Cirka hälften av provet efter centrifugeringen är plasma/serum. Patientprover analyserades på Cobas C111 efterhand som de inkom på laboratoriet och sparades därefter. Blodprov från friska djur sparades däremot direkt efter centrifugering. All plasma/serum som sparades överfördes till separata rör och frystes ner vid -22°C. Inför analysering av blodprov på Indiko Plus tinades proverna. SAA exkluderades från jämförelse, referensintervall och precision eftersom analysen inte var i gång vid tillfällena.

Intra- och inter-assay precision testades på alla analyser utom CRP, gallsyror, ISE-analyser och urea (endast inter-assay) med kontrollvätskor. Några parametrar uteslöts på grund av olika anledningar, exempelvis fungerade inte ISE-analyser under analysperioden. Fructoseamine Control Set 1 & 2 användes vid analysen av fruktosamin och MAS[®]ChemTRAK·H 1 & 2 (inköpt av Thermo Fisher) till övriga analyser.

Kontroller från Thermo Scientific var färdigblandade medan kontroll från Sentinel Diagnostics krävde tillsats av destillerat vatten enligt tillverkarens anvisningar. Dessa kontrollmaterial analyserades sedan på Indiko Plus under 1 dag i fem replikat (intra-assay precision) respektive ett replikat under fem dagar (inter-assay precision).

Linjäritet av ALP metoden bestämdes med hjälp av en spädningsserie. ALP är en parameter som kan uppnå väldigt höga koncentrationer och det är därför av intresse att undersöka instrumentets förmåga att kvantifiera koncentrationen i höga intervaller. Abtrol kontrollprov blandades och späddes i duplikat med destillerat vatten innan de analyserades på Indiko Plus. Kontrollerna späddes i nio steg, 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 % och 90 %, med 200 µl slutvolym.

3.3 Etik, Miljö & Säkerhet

Patientprover var ordinerade av veterinär i samband med diagnosticering av sjukdom och/eller uppföljande av olika tillstånd. Därför är dessa prover tagna oberoende av denna studie och överblivet material användes. Blodprov från friska djur bestod till största del av djur som ägs av personal på de olika AniCura klinikerna. Djurägarna har gett sitt medgivande för provtagning och användning av dessa blodprov i denna studie.

Till instrumenten används flertalet olika reagens, kontroller och kalibratorer som endast kommer i kontakt med personalen vid påfyllning och kassering av behållare. Vid hantering av dessa lösningar och biologiskt material har försiktighetsåtgärder tagits, där det krävs. Vid laborativt arbete har laborationsrock och i nödvändiga fall handskar använts för att skydda prover och personal. Avfall sorteras och kasseras på angivna platser.

3.4 Statistik

All data behandlades i Microsoft Excel. Jämförelsen mellan instrumenten utvärderas med hjälp av parat t-test med signifikansnivån 0,05, samt linjediagram med regression och Pearsons korrelation i Excel. Referensintervallet för Indiko Plus utarbetades med medelvärde och standardavvikelse. Precision bestämdes med hjälp av relativ standardavvikelse (CV%), som ska vara <10 % och <15 % för intra respektive inter-assay för godkänd precision. Outliers bedömdes med Grubbs' test, med signifikansnivån 0,05.

Spädningsserien utvärderades med punktdiagram och trendlinje tillsammans med determinationskoefficienten (R^2).

4. Resultat

4.1 Jämförelse

40 patientprover, 20 hundar och 20 katter, analyserades på Cobas och Indiko för att jämföra instrumentens överensstämmelse. Jämförelsen genomfördes på alla 13 analyser som finns på Cobas, utom urea och reducerat antal fosfat-analyser eftersom reagens saknades vid analystillfället. Medelvärden för de olika parametrarna visas i diagram 1. Parat t-test utfördes med signifikansnivån 0,05 (diagram 1 & bilaga 1). Nollhypotesen var att det inte är någon skillnad mellan instrumenten, hypotesen var att det finns skillnad mellan instrumenten. 4 av 13 analyser, ALT (0,063), CRP (0,919), gallsyror (0,771) och kalcium (0,161), visar ingen statistisk signifikant skillnad. P-värdet för parametrar med signifikanta skillnader varierar mellan $<0,001$ – 0,031.

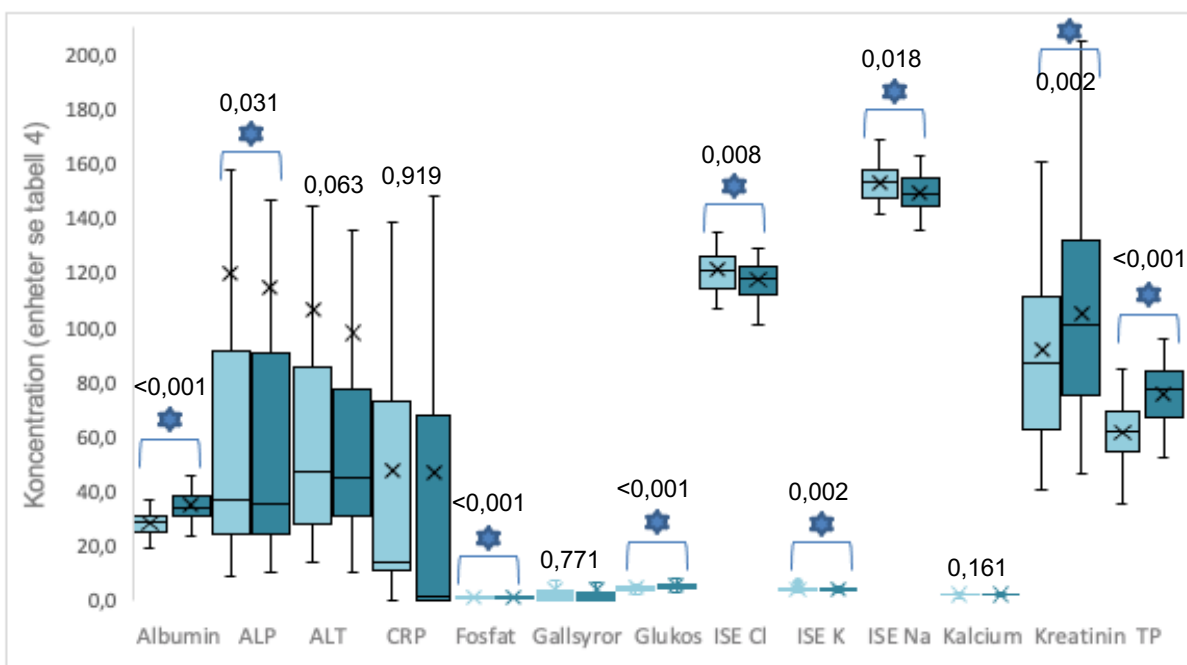


Diagram 1: Kryss visar medelvärdet av koncentrationen för respektive parameter uppmätt på Indiko Plus (vänster) och Cobas C111 (höger) och staplarna tillsammans med "whiskers" visar variationen. Siffror visar p-värdet och parametrar som är stjärnmarkerade visade skillnad från parat t-test

Analyser med signifikant skillnad redovisas i tabell 3 tillsammans med korrelation och determinationskoefficient (R^2). Det beräknades med spridningsdiagram där Indiko Plus på x-axeln och Cobas C111 på y-axeln. Medelvärdet för analyserna jämfördes och analyserna för albumin, glukos, kreatinin och totalprotein mäter högre värden på Cobas C111 än på Indiko Plus. Fosfat, Analysen för fosfat, Cl, K och Na ger högre mätvärde på Indiko Plus än på Cobas C111. Ingen tydlig skillnad av mätvärden mellan instrumenten kan ses vid ALP. Skillnaderna beräknades från medelvärde och presenteras i procentform i tabell 3.

Tabell 3: Korrelationskoefficient och determinationskoefficient (R^2) för analyser med statistisk signifikant skillnad. Skillnaden redovisas i % hur mycket högre Indiko Plus (I) eller Cobas C111 mäter (C).

	Korrelation	R^2	Skillnad (%)
Albumin	0,6654	0,4427	22 (C)
ALP	0,9983	0,9965	4 (I)
Fosfat	0,8279	0,6855	27 (I)
Glukos	0,6770	0,4584	20 (C)
ISE Cl	0,5852	0,3425	3 (I)
ISE K	0,4477	0,2005	7 (I)
ISE Na	0,4414	0,1948	2 (I)
Kreatinin	0,7847	0,6158	14 (C)
Totalprotein	0,5671	0,3216	23 (C)

4.2 Referensintervall

Blodprov från 23 friska hundar och 9 friska katter analyserades med Indiko Plus. Medelvärdet och standardavvikelse (SD) av samtliga analyser beräknades. Ett intervall togs fram med hjälp av medelvärdet $\pm 1,96 \times SD$. Signifikanta outliers togs bort och bedömdes med Grubbs' test, med signifikansnivån 0,05. Negativa tal avrundades till 0. Detta gjordes för både hundar och katter (tabell 4).

Skillnaden är inte stor på egna och Thermo Fishers referensintervall (tabell 2). Majoriteten av individerna från Hässleholm hade högre GGT-koncentration, hos båda djurslagen, än Thermo Fishers övre gräns.

Tabell 4: Referensintervall för hund (ovan) och katt (nedan).

	Medel	SD	Medel \pm 1,96*SD
Albumin (g/l)	31,9	2,2	28 - 36
	32,1	1,4	29 - 35
ALP (U/l)	48,6	24,6	0,4 - 97
	29,8	16,1	0 - 61
ALT (U/l)	60,4	26,6	8,3 - 113
	73,9	29,1	17 - 131
AST (U/l)	25,5	13,2	0 - 51
	16,5	17,4	0 - 51
Bilirubin (μmol/l)	2,0	1,2	0 - 4,4
	1,4	1,3	0 - 3,9
CK (U/l)	106,3	58,1	0 - 220
	217,4	130,6	0 - 473
CRP (mg/l)	5,8	1,3	3,3 - 8,3
Fosfat (mmol/l)	1,6	0,3	1,0 - 2,2
	1,8	0,4	1,0 - 2,6
Fruktosamin (μmol/l)	381,4	28,8	325 - 438
	346,9	32,8	283 - 411
Gallsyror (μmol/l)	8,3	8,9	0 - 26
	3,3	2,5	0 - 8,2
GGT (U/l)	7,5	3,0	1,6 - 13
	1,5	1,0	0 - 3,5
Glukos (mmol/l)	5,0	0,6	3,8 - 6,2
	6,0	2,6	0,9 - 11
ISE Cl (mmol/l)	116,3	6,0	105 - 128
	123,9	5,0	114 - 134
ISE K (mmol/l)	4,4	0,3	3,8 - 5,0
	4,0	0,6	2,8 - 5,2
ISE Na (mmol/l)	149,4	4,8	140 - 159

	154,3	2,5	149 - 159
Järn (µmol/l)	29,8 16,5	9,8 4,6	11 - 49 7,5 - 26
Kalcium (mmol/l)	2,8 2,8	0,1 0,1	2,6 - 3,0 2,6 - 3,0
Kolesterol (mmol/l)	5,9 3,8	1,9 1,5	2,2 - 9,6 0,9 - 6,7
Kreatinin (µmol/l)	81,3 124,4	15,6 24,9	51 - 112 76 - 173
Total Protein (g/l)	63,3 72,7	5,4 4,5	53 - 74 64 - 81
Triglycerider (mmol/l)	1,2 0,7	0,7 0,8	0 - 2,6 0 - 2,3
Urea (mmol/l)	6,6 9,6	1,6 2,4	3,5 - 9,7 4,9 - 14

4.3 Precision

Intra-assay precision för alla parametrar, utom CRP och gallsyror, bestämdes genom att analysera kontrollprov, under en dag med 5 replikat i 2 koncentrationsnivåer (tabell 5). Medelvärdet av alla replikat beräknades samt relativ standardavvikelse (CV%) för varje analys. Alla analyser har CV% <10 %, vilket innebär att variationen i ett prov är liten.

Inter-assay precision för alla parametrar, utom urea, CRP, ISE-analyserna och gallsyror, bestämdes genom att analysera kontrollprov, 1 replikat/dag under fem dagar i 2 koncentrationsnivåer (tabell 5). Samma kontrollprov analyserades varje dag. Samma beräkningar som vid intra-assay utfördes. Ungefär hälften av analyserna uppfyller CV% <15 %. Ett tydligt mönster ses (förutom fruktosamin), där koncentrationsnivån 1 har högre CV% än koncentrationsnivå 2. Endast albumin, ALP och fruktosamin har godkända CV% i båda nivåer. Kreatinin är enda analysen med CV% > 15 % i båda analyser. Första dagen av inter-assay utesluts i kolumn "CV% 2" eftersom denna dag skiljer sig avsevärt jämfört med de resterande 4 dagarna. Samma skillnad observeras vid jämförelse av dag 1 i inter-assay med de 5 replikaten i intra-assay. Avvikelser för dag 1 testades med Grubbs' test mot resterande 4 dagar, och visade i 16 av 32 parametrar att

dag 1 är outlier. CV% för dag 2–5 i inter-assay blir i stället <10 % i alla parametrar, utom vid kreatinin 2 som är 18 %.

Tabell 5: Intra & inter-assay precision. Medelvärde och CV% av samtliga parametrar i två koncentrationnivåer under en dag respektive fem dagar. "CV% 2" redovisar dag 2–5 av inter-assay.

	Medel Intra	CV% Intra	Medel Inter	CV% Inter	CV% 2 Inter
Albumin 1 (g/l)	39,00	0,48	42,15	15,0	0,2
Albumin 2 (g/l)	36,75	0,42	37,66	2,1	0,5
ALP 1 (U/l)	45,21	1,33	38,35	9,8	6,6
ALP 2 (U/l)	221,43	1,40	199,15	4,0	3,9
ALT 1 (U/l)	47,13	0,88	43,63	16,7	6,4
ALT 2 (U/l)	175,60	0,57	161,67	4,0	4,3
AST 1 (U/l)	38,15	3,00	46,38	25,5	5,4
AST 2 (U/l)	152,31	0,16	164,16	7,7	4,4
Bilirubin 1 (µmol/l)	8,31	0,97	11,56	32,7	9,3
Bilirubin 2 (µmol/l)	43,60	0,94	55,06	10,5	8,7
CK 1 (U/l)	80,58	1,60	93,60	24,4	2,9
CK 2 (U/l)	348,27	0,87	358,86	6,0	0,9
Fosfat 1 (mmol/l)	1,15	0,46	1,19	16,2	2,6
Fosfat 2 (mmol/l)	2,12	0,61	2,08	6,0	0,9
Fruktosamin 1 (µmol/l)	293,64	1,35	283,96	3,2	3,7
Fruktosamin 2 (µmol/l)	567,71	1,68	534,31	4,0	4,6
GGT 1 (U/l)	32,53	2,79	36,24	24,4	4,5
GGT 2 (U/l)	84,84	0,67	83,92	4,6	2,5
Glukos 1 (mmol/l)	3,17	0,86	3,46	17,2	0,6
Glukos 2 (mmol/l)	11,20	0,86	11,23	1,8	1,3
ISE Cl 1 (mmol/l)	105,13	0,84	-	-	-
ISE Cl 2 (mmol/l)	98,49	0,58	-	-	-
ISE K 1 (mmol/l)	2,60	0,81	-	-	-

ISE K 2 (mmol/l)	4,43	0,55	-	-	-
ISE Na 1 (mmol/l)	146,19	0,54	-	-	-
ISE Na 2 (mmol/l)	136,26	0,46	-	-	-
Järn 1 (µmol/l)	44,27	0,33	49,14	23,3	0,2
Järn 2 (µmol/l)	29,10	0,76	29,02	3,1	0,3
Kalcium 1 (mmol/l)	1,53	0,51	1,72	23,6	1,9
Kalcium 2 (mmol/l)	2,37	0,33	2,44	2,9	1,5
Kolesterol 1 (mmol/l)	5,04	0,99	5,61	18,8	0,9
Kolesterol 2 (mmol/l)	3,58	0,97	3,62	2,3	0,7
Kreatinin 1 (µmol/l)	83,39	2,00	89,37	19,2	2,4
Kreatinin 2 (µmol/l)	332,69	0,27	369,93	18,7	18,1
Totalprotein 1 (g/l)	64,01	0,35	72,13	20,8	2,5
Totalprotein 2 (g/l)	56,82	1,06	58,70	4,5	3,4
Triglycerider 1 (mmol/l)	2,62	0,75	2,74	18,4	8,5
Triglycerider 2 (mmol/l)	2,18	0,97	2,22	1,2	1,1
Urea 1 (mmol/l)	6,14	1,48	-	-	-
Urea 2 (mmol/l)	15,50	1,34	-	-	-

4.4 Linjäritet (ALP analys)

Linjäritet av ALP analysen bestämdes med hjälp av spädningsserie av kontrollprov. Abtrol späddes i 9 steg i duplikat och stamlösning analyserades sedan i Indiko Plus, som resulterade i uppmätta koncentrationer. Koncentrationen beräknades som 10 %, 20%, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 % och 90 % av stamlösningens koncentration (ospätt kontrollprov). Diagram 2 redovisar hur beräknade koncentrationer och uppmätta koncentrationer förhåller sig till varandra. Determinationskoefficienten (R^2) blev 0,9706 och korrelationskoefficienten blev (R) 0,9852. I mitten av mätintervallet ses en brytning och de lägre och övre värdena har olika lutning.

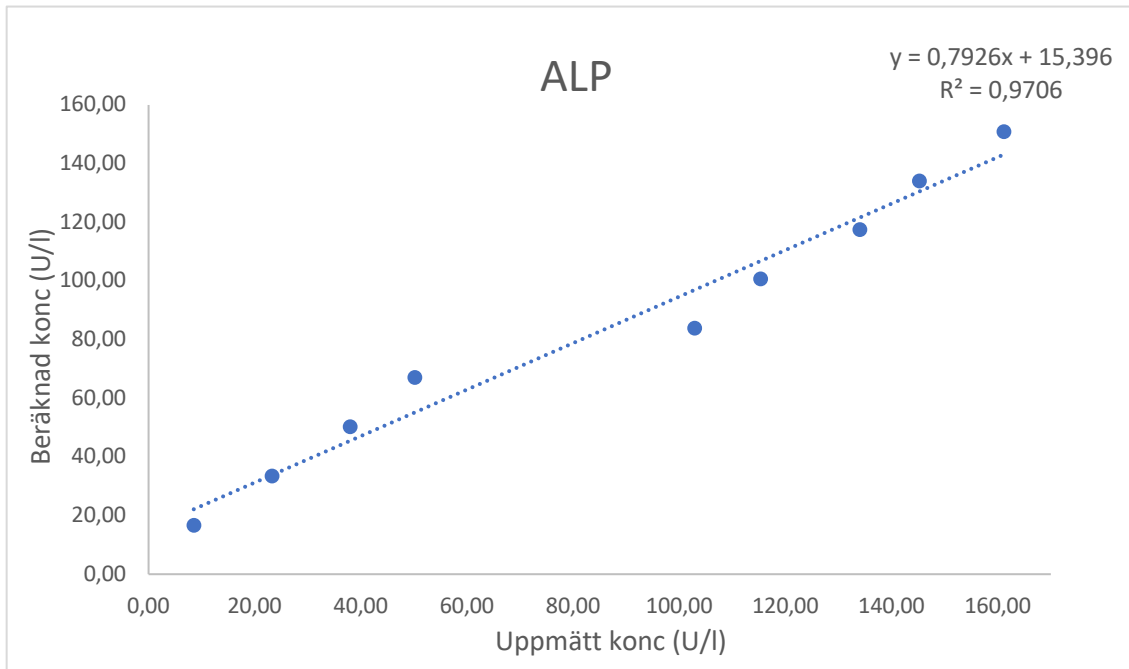


Diagram 2: Linjäritet av ALP analys med uppmätt koncentration (x-axeln) och beräknad koncentration (y-axeln).

5. Diskussion

Syftet med denna studie var att verifiera det nya instrumentet Indiko Plus samt jämföra med Cobas C111. Verifieringen bestod av precisionsstudie, intra och inter-assay, och linjäritetsstudie av ALP analys. Syftet var också att ta fram ett nytt referensintervall för hund och katt som jämfördes med Thermo Fishers intervall.

5.1 Felkällor pre- & post-analys

Enligt Najat (2017) beror 70 % av diagnostiska beslut på laborietester. Det är därför av hög vikt att dessa tester har hög noggrannhet, vilket gör testerna pålitliga (Najat, 2017). Felkällor delas huvudsakligen upp i tre faser: preanalys, analys och postanalys (Najat, 2017; Chawla et al., 2010). Cirka 93 % av alla felkällor uppstår i pre- och postanalys (Chawla et al., 2010). De vanligaste preanalytiska felen uppstår vid felaktig provtagning, transport och märkning av prov. I denna studie utfördes provtagningen av erfaren personal, alla prover märks med datautskrivna etiketter och prover anländer oftast till laboriet direkt efter provtagningen. Exempel på postanalytiska felkällor är överföring av resultat. Just nu överförs resultat manuellt, där många fel kan uppstå.

I en äldre studie undersöktes påverkan av provtagningsmetod på utvalda biokemiska parametrar hos katter (Reynolds et al., 2007). I Hässleholm används två typer av rör; små, Multivette®, och stora med vacuumsystem. Vilket typ av rör som används beror på djurets storlek. De små rören används oftast till katter och små hundar, och de stora rören till större hundar. I studien jämfördes vacuumsystemet med Microvette® kapillärsystem, som liknar Multivette® (Reynolds et al., 2007; Sarstedt, u.å.). Slutsatsen var att det inte framkom en relevant klinisk skillnad mellan provtagningsmetoderna (Reynolds et al., 2007). Fördelen med den mindre invasiva metoden är att provtagningen underlättas på katter, som naturligt blir stressad och okontrollerbar vid provtagning. Exempelvis uppstår hyperglykemi hos katter som uppträder stressade eller aggressiva. I denna studie användes två typer av stora rör; plasma (litium-heparin) och serum (koagulationsaktivator). Generellt representeras provet bättre i plasma än i serum (Favaloro & Mohammed, 2020; Lima-Oliveira et al., 2018). I en studie jämfördes resultat från plasma- och serumprover av olika biokemiska parametrar (Lima-Oliveira et al., 2018). Slutsatsen var att plasma- och serumprover inte är utbytbara och föreslår en standardisering av vilket prov som är optimal för varje kemianalys. I denna studie varierade serum och plasma på analyserade prover från friska och patienter. Detta bör inte ha en stor inverkan i jämförelsestudie eftersom samma prov analyserades på båda instrument. Inverkan av provtypen skulle då vara liknande. Dock kan variationen av provtyp ha en större betydelse i framtagning av referensintervallen och som Lima-Oliveira (2018) föreslog, skulle standardisering för provtyp av varje kemianalys vara fördelaktigt. Referensintervallen samt patientprovet ska analyseras i provtyp, serum eller plasma, som är optimal för analysen.

5.2 Jämförelse Indiko Plus & Cobas C111

AniCura i Hässleholm har köpt in Indiko Plus som ska ersätta deras äldre kemiinstrument Cobas C111. Detta innebär framför allt en uppgradering i kapacitet och antal analyser. Båda instrument är lättanvända men Cobas C111 kan stanna upp flödet i processen. Vid påfyllning av kyvetter, reagens och kontroller måste instrumentet gå ner i standby (Bowling & Katayev, 2010). Samtidigt finns det endast 8 platser för prov, till skillnad från Indiko Plus 9 x 6 platser (Bowling & Katayev, 2010; Thermo Fisher Scientific, 2018). På det sättet är Indiko Plus en stor förbättring, eftersom förbrukningsmaterialet kan placeras i instrumentet samtidigt som analysering pågår. Då kan exempelvis kyvetter

fyllas på i förebyggande syfte, utan att flödet stannar upp. Proverna placeras i Indiko Plus rullande, så länge det finns lediga rack. En annan tydlig förbättring är ökning av antalet analyser. Detta innebär inte bara en förbättring hos laboratoriet, utan även för djursjukhuset generellt. Det medför exempelvis att veterinärer kan utöka möjligheten att undersöka patienter och ställa diagnoser. Nackdelar kring Indiko Plus kan vara att den tar lite större plats än Cobas C111. I det fallet överväger fördelarna tyngre, eftersom brist på plats inte är ett problem. Ytterligare en nackdel är att prover lätt kan blandas ihop om användaren inte är uppmärksam. För att instrumentet ska veta vad det är för prov, vilka analyser som ska genomföras och placering i rack, skrivs detta in för hand i mjukvaran. Detta behöver också göras i Cobas C111. Skillnaden är att när ett rack plockas ur Indiko Plus när proverna är färdiga, måste placeringarna i racket rensas i mjukvaran. Om ett nytt prov placeras på samma plats, är informationen från tidigare prov kvar. Detta kan dock undvikas genom att prover markeras med streckkoder, som AniCura planerar göra i framtiden. Samt när mjukvaran kopplas ihop med journalsystemet, kommer beställningar att överföras automatiskt.

Det finns inga tidigare jämförelser mellan dessa instrument publicerade. Eftersom samma prov mättes på båda instrument, borde en större skillnad teoretiskt sätt ej förekomma. Den statistiska analysen av data med ett parat t-test visar att endast 4 av 13 analyser, ALT, CRP, gallsyror och kalcium, inte visar en statistisk skillnad mellan mätvärden på de olika instrumenten. Vid övriga analyser finns det med 95 % sannolikhet en signifikant skillnad mellan instrumenten. Cobas C111 använts i snart 10 år vilket kan orsaka en viss skillnad jämfört med ett helt nytt instrument. Ingen märkbar skillnad av Cobas mätnoggrannhet och reproducerbarhet har noterats under de senaste åren. Men trots det kan bias under åren försämrats, alltså hur mycket mätvärdena avviker från det sanna värdet. Ännu en trolig orsak till skillnaderna är att mätningarna på instrumenten inte utfördes i direkt anslutning till varandra. Men det kunde inte utföras eftersom Cobas C111 slutade fungera under en viss tid. Enligt Reynolds et al. (2006) påverkas inte parametrar i plasma av frysning och tinings cykler utan snarare tiden av förvaringen. Därför förväntas det ändå bli en skillnad mellan mätningarna på instrumenten. Instrumenten använder sig av olika reagens där det förekommer exempelvis olika pH eller koncentrationer mellan instrumenten. 2 av 4 analyser, CRP och gallsyror, där ingen statistisk signifikant skillnad förekommer, används samma reagens till båda instrument. I de flesta fall ses en tydlig trend där det ena instrumentet mäter kontinuerligt högre värden. Kalibratorer och

kontroller skiljs också åt och därför har instrumenten blivit kalibrerade med olika koncentrationer.

Viktigt att notera vid t-test är att statistisk signifikans inte innebär att det är kliniskt signifikant (Jakobsen et al., 2014). Frågan är ifall skillnaderna är kliniskt relevanta. Förekommer dessa skillnader på grund av preanalytisk variation, som diskuteras tidigare, eller på grund av instrumenten? Instrumentets variation kan förklaras med mätosäkerhet (Backman-Johansson et al., 2018). Om avvikande värden ligger inom detta intervall, beror skillnaden på instrumentets variation. Men om mätosäkerheten är mindre än den statistiska skillnaden, är skillnaden kliniskt relevant. Dock har inte tillräckligt många prover analyserats på Indiko Plus för att beräkna mätosäkerheten. Studeras korrelationen och determinationskoefficienten (tabell 3) är det bristande överensstämmelse mellan Indiko Plus och Cobas C111, förutom vid ALP. Korrelation = 1 och determinationskoefficient = 1 är det mest optimala. Både korrelation och R^2 för ALP ligger vid 0,99, vilket är bra. Ett t-test visar endast om det finns en skillnad, men inte vilket instrument som är det bättre. I tidigare studier visar både Cobas C111 och Indiko Plus god precision och linjäritet av undersökta analyser (Bowling & Katayev, 2010; Wong et al., 2017; Köhler et al., 2017). Trots det är CV% generellt högre på Indiko Plus än på Cobas i dessa studier, dock är det inte beräknat på samma typer av analyser som undersöks i denna studie. I en av studierna jämfördes Indiko Plus mot 3 andra instrument. Bland dem hade Indiko Plus näst högst CV% (Wong et al., 2017).

5.3 Referensintervall hund & katt

Referensintervall representerar 95 % av den friska populationen (Backman-Johansson et al., 2018; Friedrichs et al., 2012). Friedrichs et al., (2012) föreslår kriterier för vilka individer som ska inkluderas i populationen som verifierar att djuret är friskt. Kriterierna är biologiska, kliniska och geografiska, exempelvis ålder, sjukdomshistorik och boendeplats. Det föreslås även exkluderingsskriterier, exempelvis medicinering eller dräktighet. Dessa bör väljas ut innan studiens början. I denna studie ställdes endast ett krav, att djuret är friskt, vilket kan vara en bristfällighet eftersom ingen undersökning gjordes för att verifiera detta. Minst 120 individer rekommenderas för att fastställa ett referensintervall, dock är mindre populationer vanligt inom veterinärmedicin och ofta oundvikligt. I denna studie deltog endast 23 hundar 9 katter eftersom tiden inte räckte till

tillräcklig insamling av prover. Mindre populationer har högre grad av osäkerhet vid uppskattning av referensintervall än större populationer. Därför är det extra viktigt att minska preanalytisk variation, imprecision, och kan göras genom att standardisera alla steg i studien, exempelvis att plasma/serumprover alltid används till samma analys. Som det nämndes tidigare kan resultaten skilja beroende på plasma/serumprov och det togs inte hänsyn till detta i denna studie (Friedrichs et al., 2012).

Trots att Thermo Fisher bistår med referensintervall för samtliga analyser, är det viktigt att verifiera mot den egna populationen. Thermo Fisher skriver även att deras intervall endast ska fungera som en guide och det rekommenderas att användare kontrollerar själva (Thermo Fisher Scientific, 2017). Thermo Fishers kriterier ser troligen inte likadana ut om AniCura i Hässleholm hade valt ut egna. Exempelvis beror halten av kreatinin till stor del av djurets storlek (muskler). Har då Thermo Fishers studie i genomsnitt mindre djur som deltar, stämmer det inte med populationen i Hässleholm. Thermo Fishers studie utfördes av Cornell University i New York, USA, på en Cobas 501. Det är därför ytterligare viktigt att verifiera referensintervallet, eftersom det ska användas i samband med ett annat instrument, Indiko Plus.

Generellt ligger Thermo Fisher (tabell 2) och det egna referensintervallet (tabell 4) nära varandra vid visuell jämförelse och i ungefär lika breda intervall. Hur många hundar och katter som ingick i studien av Thermo Fisher framgår inte. Samt ingen övrig information som ras, ålder och kön finns inte tillgängligt och därför har ingen hänsyn till detta tagits. GGT hade den största märkbara skillnaden. I båda djurslagen hade mer än majoriteten av den friska populationen i Hässleholm för högt värde av GGT, enligt Thermo Fishers intervall. Dessa djur var inte sjuka och därför är det viktigt att ändra referensramen, för denna population. Dock på grund av liten population och avsaknad på specifika kriterier bör referensintervallet valideras ytterligare för att garantera ett pålitligt referensintervall (Friedrichs et al., 2012).

5.4 Precision av Indiko Plus

Precisionen testades i två koncentrationsnivåer av de olika analyserna. Det är oftare viktigare att ha bättre precision bland högre värden för att kunna följa en trend av avvikande resultat. Dock är det också viktigt att ha bra precision kring gränsvärden, som ofta ligger kring de lägre koncentrationerna. Samtliga parametrar i intra-assayen

precisionen (tabell 5) hade CV% <10 %, vilket är den accepterade gränsen. Desto lägre CV% desto bättre är repeterbarheten. Detta resultat innebär i detta fall att repeterbarheten för instrumentet inom en kort tid är bra. Däremot visade inter-assay precisionen under 5 dagar (tabell 5) sämre resultat, som undersöker reproducerbarheten mellan flera dagar. Endast ungefär hälften av parametrarna ligger under den accepterade gränsen, <15 %. Parametrarna, förutom fruktosamin, har i nästan alla fall högre CV% i nivå 1 än i nivå 2. Varför nivå 1 har högre CV% för alla 5 dagar, kan bero på att CV% tenderar att öka när koncentrationen närmar sig 0, trots att resultaten är precisa (Jelliffe et al., 2015). Men en del av parametrarna i både intra- och inter-assay, är koncentrationen i nivå 1 högre än i nivå 2. Trots att nivå 1 i vissa parametrar har högre koncentration än nivå 2, är CV% fortfarande genomgående högre i nivå 1 än nivå 2. Därför kan inte detta mönster fullständigt förklaras av CV%-ökning i samband med minskande koncentration. Majoriteten av mätvärdena under dag 1 är outliers jämfört med de resterande 4 dagarna. Om dag 1 utesluts blir CV% för samtliga parametrar <10 %, utom kreatinin 2 (18 %), som är godkänt.

Koncentrationen av parametrar kan påverkas av den biologiska variationen (Backman-Johansson et al., 2018). Hur stor denna variation är, skiljer sig mellan parametrar och mellan dagar. I en studie (Baral et al., 2014) mättes den biologiska variationen inom olika parametrar i kattserum. Även där överstiger en del parametrar 15%, och CV% varierar mellan parametrarna, som i tabell 7 till skillnad från tabell 5 där det i stället utfördes under endast ett tillfälle, och spridningen av CV% är mindre. I en artikel presenterar Harr et al., (2013) rekommenderade CV% som baseras på den biologiska variationen av parametrarna i hundar, exempelvis ALP = 34,2 %, CRP = 29,3 % och järn = 17,2 %. Dock borde den biologiska variationen inte påverka resultatet eftersom samma prov analyserades under alla dagar.

I en tidigare studie (Köhler et al., 2015) kontrollerades precisionen av drog-analyser i urinprover på Indiko Plus. Där varierar inter-assay CV% mellan 2,0 – 11 %. I en senare studie (Wong et al., 2017) testades precisionen, på Indiko Plus, under 2 veckor på humana blodprov. CV% varierar mellan 3,1 – 6,8%. Thermo Fisher har själva testat precisionen av samtliga parametrar på Indiko Plus. CV% överstiger då sällan 2 % och i det mest extrema fallet uppnås 6,5% vid kreatinin (Thermo Fisher Scientific, 2017). Även i denna studie sticker kreatinin ut med höga CV% i inter-assay för både 5 och 4 dagar. Med tanke

på att Indiko Plus i tidigare studier visat bra precision, beror troligen det höga CV% av inter-assay under 5 dagar inte på instrumentet.

Faktorer som kan ha påverkat resultaten är hantering av provmaterialet (Harr et al., 2013). MAS[®]ChemTRAK·H är endast hållbar i 7 dagar efter öppning (Thermo Scientific u.åa; Thermo Scientific u.åb). Detta material ska förvaras vid 2 – 8 °C samt är de ljuskänsliga. Trots att de stått mörkt i kyl mellan analystillfällen, är sådana faktorer svåra att styra när de väl är i instrumentet. Utöver den vanliga analystiden, uppstod problem med ISE-analyserna vilket drog ut på analystiden ytterligare. Vid just inter-assay skiftar det mellan rumstemperatur och kyl flera gånger, eftersom det utförs under flera dygn. Dessa kontrollmaterial transporteras nedfrysade, där -25 till -15 °C rekommenderas fram till användning, för bästa resultat. Trots att användaren följer rekommendationer kan inte optimal förvaring under transport garanteras. MAS[®]ChemTRAK·H är inte bara känslig för ljus och temperatur utan även luftexponering. Förvaringsflaskorna slöts direkt efter att provet har aspirerats, men luft går ej att undvika när proven väl är placerade i instrumentet. Har dessa faktorer påverkat kontrollmaterialet, kan det förklara varför intra-assay precisionen blev bra. Eftersom precisionen kontrollerades vid ett tillfälle, där kontrollmaterialet inte blivit utsatt för ytterligare felkällor mellan analys av replikaten. Dock kan inte hanteringen förklara varför dag 1 av inter-assay inte stämmer överens med de resterande dagarna eftersom dålig hantering borde orsakat avvikande värden under de senare dagarna.

5.5 Linjäritet av ALP analys på Indiko Plus

Punkterna kring trendlinjen svajar lite och de har grupperats i olika intervall (diagram 2). I både nedre och övre intervallet börjar punkterna nedanför och slutar ovanför trendlinjen. Ett stort glapp i intervallet på x-axeln mellan 50 – 100 U/l förekommer, där intervallerna delas. I de nedre intervallen, är beräknad koncentration högre än den uppmätta, och tvärtom i det högre intervallet. Vid spädning användes två typer av pipetter, 10 – 100 µl och 100 – 1000 µl. Det var troligen fel på 100 – 1000 µl pipetten, som i sin tur bidrog till felaktig spädningsserie.

Pipetter som genererar riktiga och precisa resultat, kräver underhållning, exempelvis rengöring och kalibrering (Pushparaj, 2020). När en pipett har blivit rengjord krävs en ny kalibrering av pipetten. Det rekommenderas att laboratoriet inför rutiner för skötsel och

kalibrering av pipetterna för att undvika liknande fel i framtiden. Både korrelationskoefficienten och determinationskoefficienten hade förmodligen blivit ytterligare bättre ifall kalibrerade pipetter hade använts. Trots det visade spänningsserien en stark korrelation, $R = 0,99$, och hög determinationskoefficient, $R^2 = 0,97$. Men dessa resultat är inte pålitliga eftersom diagrammet inte blev linjärt. För att försäkra sig om linjäriteten av ALP analysen borde en ny spänningsserie göras, med kalibrerade pipetter.

6. Slutsats

Slutsatsen är att det inte finns ens statistisk signifikant skillnad mellan Indiko Plus och Cobas C111 vid kemianalyserna; ALT, CRP, gallsyror och kalcium. Resten av de 13 analyserna visade sig ha en statistisk signifikant skillnad. Den kliniska relevansen kan utvärderas ytterligare med mätosäkerhet för instrumenten. Ett nytt referensintervall utarbetades och skiljer sig inte avsevärt från Thermo Fishers. Ytterligare validering kan göras med fler individer och kriterier för att garantera ett pålitligt referensintervall till rätt population. Intra-assay precision resulterade i låga CV% vilket innebär att Indiko Plus är precis inom ett kort tidsintervall. Inter-assay precision resulterar också i låga CV% om dag 1 utesluts. Orsaken till att dag 1 av inter-assayn avviker är okänd. Linjäriteten avviker troligen på grund av dålig underhållning av pipett, därför bör ett nytt försök göras.

Tackord

Först och främst vill jag tacka AniCura i Hässleholm som tog emot mig för mitt examensarbete. Jag vill också tacka min laborationshandledare Sandra Fagerlund, som har hjälpt mig hela vägen med allt, och möjliggjorde mitt arbete. Även tack till laborationspersonalen som alltid varit hjälpsamma och trevliga. Stort tack till min skrivhandledare Celia Cabaleiro Lago, som har hjälp med uppsatsen och bidragit med förbättringar. Sist men inte minst vill jag tacka övrig personal på AniCura och deras djur, som har genomfört provtagning och bidragit med prover till arbetet.

Referenser

Anzalone, G. C., Glover, A. G., & Pearce, J. M. (2013). Open-source colorimeter. *Sensors (Basel, Switzerland)*, 13(4), 5338-5346. <https://doi.org/10.3390/s130405338>

Arya, S. K., Datta, M., & Malhotra, B. D. (2008). Recent advances in cholesterol biosensor. *Biosensors & bioelectronics*, 23(7), 1083–1100. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2007.10.018>

Backman-Johansson, C., Beck, O., Becker, C., Berggren-Söderlund, M., Bjellerup, P., Blennow, K., Blom, A., Blomqvist, M., Brattsand, G., Carlson, M., Carlsson, M., Carlsson, S., Christersson, A., Dahle, C., von Döbeln, U., Grankvist, K., Grubb, A., van Hage, M., Hammersten, O & Zetterberg, H. (2018). *Laurells Klinisk Kemi i praktisk medicin* (10:e uppl.). Studentlitteratur.

Bakker, E., & Pretsch, E. (2007). Modern potentiometry. *Angewandte Chemie (International Ed.)*, 46(30), 5660-5668. <https://doi.org/10.1002/anie.200605068>

Baral, R. M., Dhand, N. K., Freeman, K. P., Krockenberger, M. B., & Govendir, M. (2014). Biological variation and reference change values of feline plasma biochemistry analytes. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 16(4), 317–325. <https://doi.org/10.1177/1098612X13508770>

Bottari, N. B., Crivellenti, L. Z., Borin-Crivellenti, S., Oliveira, J. R., Coelho, S. B., Contin, C. M., Tatsch, E., Moresco, R. N., Santana, A. E., Tonin, A. A., Tinucci-Costa, M., & Da Silva, A. S. (2016). Iron metabolism and oxidative profile of dogs naturally infected by ehrlichia canis: Acute and subclinical disease. *Microbial Pathogenesis*, 92, 26-29. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2015.11.030>

Bowling, J., & Katayev, A. (2010). An Evaluation of the Roche Cobas c 111. *Laboratory Medicine*, 41(7), 398-402. <https://doi.org/10.1309/LM6T8D1LKQXVNCAC>

Burtis, C. A., & Ashwood, E. R. (2001). *Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry* (5 uppl). Saunders Elsevier.

Cao, L., Chang, M., Lee, C., Castner, D. G., Sukavaneshvar, S., Ratner, B. D., & Horbett, T. A. (2007). Plasma-deposited tetraglyme surfaces greatly reduce total blood protein adsorption, contact activation, platelet adhesion, platelet procoagulant activity, and in

vitro thrombus deposition. *Journal of Biomedical Materials Research. Part A*, 81A(4), 827-837. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.31091>

Chawla, R., Goswami, B., Tayal, D., Mallika, V. (2010). Identification of the Types of Preanalytical Errors in the Clinical Chemistry Laboratory: 1-Year Study at G.B. Pant Hospital, *Laboratory Medicine*, 41(2), 89–92. <https://doi.org/10.1309/LM9JXZBMLSVJT9RK>

Christensen, M., Jacobsen, S., Ichiyanagi, T., & Kjelgaard-Hansen, M. (2012). Evaluation of an automated assay based on monoclonal anti-human serum amyloid A (SAA) antibodies for measurement of canine, feline, and equine SAA. *The Veterinary Journal (1997)*, 194(3), 332-337. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2012.05.007>

Cornell University, College of Veterinary Medicine. (2017). *Chemistry Cobas*. <https://ahdc.vet.cornell.edu/sects/clinpath/reference/chem.cfm>.

Deitz, K. L., Makielski, K. M., Williams, J. M., Lin, H., & Morrison, J. A. (2015). Effect of 6–8 weeks of oral ursodeoxycholic acid administration on serum concentrations of fasting and postprandial bile acids and biochemical analytes in healthy dogs. *Veterinary Clinical Pathology*, 44(3), 431-436. <https://doi.org/10.1111/vcp.12275>

Delanghe, J. R. (2017). The achievements of clinical chemistry testing: 1967–2017. *Clinical Biochemistry*, 50(4-5), 165-167. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2016.11.020>

Favaloro, E. J., & Mohammed, S. (2020). Plasma vs serum as test sample for the chemiluminescent AcuStar HemosIL HIT-IgG(PF4-H) assay. *International Journal of Laboratory Hematology*, 43(1), e41-e44. <https://doi.org/10.1111/ijlh.13353>

Friedrichs, K. R., Harr, K. E., Freeman, K. P., Szladovits, B., Walton, R. M., Barnhart, K. F., Blanco-Chavez, J., & American Society for Veterinary Clinical Pathology. (2012). ASVCP reference interval guidelines: Determination of de novo reference intervals in veterinary species and other related topics. *Veterinary Clinical Pathology*, 41(4), 441-453. <https://doi.org/10.1111/vcp.12006>

Giaretta, P. R., Rech, R. R., Guard, B. C., Blake, A. B., Blick, A. K., Steiner, J. M., Lidbury, J. A., Cook, A. K., Hanifeh, M., Spillmann, T., Kilpinen, S., Syrjä, P., & Suchodolski, J. S. (2018). Comparison of intestinal expression of the apical sodium-dependent bile acid transporter between dogs with and without chronic inflammatory

enteropathy. *Journal of veterinary internal medicine*, 32(6), 1918–1926.
<https://doi.org/10.1111/jvim.15332>

Harr, K. E., Flatland, B., Nabity, M., Freeman, K. P., & ASVCP. (2013). ASVCP guidelines: Allowable total error guidelines for biochemistry. *Veterinary Clinical Pathology*, 42(4), 424-436. <https://doi.org/10.1111/vcp.12101>

Jakobsen, J. C., Gluud, C., Winkel, P., Lange, T., & Wetterslev, J. (2014). The thresholds for statistical and clinical significance - A five-step procedure for evaluation of intervention effects in randomised clinical trials. *BMC Medical Research Methodology*, 14(1), 34-34. <https://doi.org/10.1186/1471-2288-14-34>

Javard, R., Grimes, C., Bau-Gaudreault, L., & Dunn, M. (2017). Acute-Phase Proteins and Iron Status in Cats with Chronic Kidney Disease. *Journal of veterinary internal medicine*, 31(2), 457–464. <https://doi.org/10.1111/jvim.14661>

Jelliffe, R. W., Schumitzky, A., Bayard, D., Fu, X., & Neely, M. (2015). Describing Assay Precision-Reciprocal of Variance Is Correct, Not CV Percent: Its Use Should Significantly Improve Laboratory Performance. *Therapeutic drug monitoring*, 37(3), 389–394. <https://doi.org/10.1097/FTD.0000000000000168>

Jin, M., Shao, H., Jiang, Z., Jin, F., Chen, T., & Wang, J. (2012). A reliable immunoturbidimetry method for immunoglobulin G in bovine colostrum. *Food and Agricultural Immunology*, 23(2), 133-144. <https://doi.org/10.1080/09540105.2011.606561>

Kessler, A. (2016). Mass spectrometry – a key technique for traceability in clinical chemistry. *TrAC, Trends in Analytical Chemistry (Regular Ed.)*, 84, 74-79. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2016.03.017>

Kjelgaard-Hansen, M., Jensen, A. L., & Kristensen, A. T. (2003). Evaluation of a commercially available human C-Reactive protein (CRP) turbidometric immunoassay for determination of canine serum CRP concentration. *Veterinary Clinical Pathology*, 32(2), 81-87. <https://doi.org/10.1111/j.1939-165X.2003.tb00319.x>

Köhler, K. M., Hammer, R., Riedy, K., Auwärter, V., & Neukamm, M. A. (2017). Evaluation of CEDIA and DRI drugs of abuse immunoassays for urine screening on a thermo indiko plus analyzer. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 31(1), e22021-n/a. <https://doi.org/10.1002/jcla.22021>

- Kovalik, M., Thoday, K. L., Evans, H., van den Broek, Adri H.M., & Mellanby, R. J. (2012). Prednisolone is associated with an increase in serum insulin but not serum fructosamine concentrations in dogs with atopic dermatitis. *The Veterinary Journal* (1997), 192(2), 212-216. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2011.06.002>
- Lima-Oliveira, G., Monneret, D., Guerber, F., & Guidi, G. C. (2018). Sample management for clinical biochemistry assays: Are serum and plasma interchangeable specimens? *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, 55(7), 480-500. <https://doi.org/10.1080/10408363.2018.1499708>
- Mahmodi Arjmand, E., Saadatmand, M., Bakhtiari, M. R., & Eghbal, M. (2018). Design and fabrication of a centrifugal microfluidic disc including septum valve for measuring hemoglobin A1c in human whole blood using immunoturbidimetry method. *Talanta (Oxford)*, 190, 134-139. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.07.081>
- Monogarova, O. V., Oskolok, K. V., & Apyari, V. V. (2018). Colorimetry in chemical analysis. *Journal of Analytical Chemistry (New York, N.Y.)*, 73(11), 1076-1084. <https://doi.org/10.1134/S1061934818110060>
- Najat D. (2017). Prevalence of Pre-Analytical Errors in Clinical Chemistry Diagnostic Labs in Sulaimani City of Iraqi Kurdistan. *PloS one*, 12(1), e0170211. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0170211>
- Pushparaj P. N. (2020). Revisiting the Micropipetting Techniques in Biomedical Sciences: A Fundamental Prerequisite in Good Laboratory Practice. *Bioinformation*, 16(1), 8–12. <https://doi.org/10.6026/97320630016008>
- Reusch, C. E., Gerber, B., & Boretti, F. S. (2002). Serum fructosamine concentrations in dogs with hypothyroidism. *Veterinary Research Communications*, 26(7), 531-536. <https://doi.org/10.1023/A:1020287430949>
- Reynolds, B. S., Boudet, K. G., Faucher, M. R., Germain, C., Geffre, A., & Lefebvre, H. P. (2007). Comparison of a new device for blood sampling in cats with a vacuum tube collection system - plasma biochemistry, haematology and practical usage assessment. *Journal of feline medicine and surgery*, 9(5), 382–386. <https://doi.org/10.1016/j.jfms.2007.03.006>
- Reynolds, B., Taillade, B., Médaille, C., Palenché, F., Trumel, C., & Lefebvre, H. P. (2006). Effect of repeated freeze-thaw cycles on routine plasma biochemical

constituents in canine plasma. *Veterinary Clinical Pathology*, 35(3), 339-340. <https://doi.org/10.1111/j.1939-165X.2006.tb00144.x>

Sarstedt (u.å). *Blood Collection Systems* [Broschyr]. https://dafxbb5uxjcds.cloudfront.net/fileadmin/user_upload/99_Broschueren/Englisch/563_BE-Systeme_GB_0812.pdf

Schumann, G., Bonora, R., Ceriotti, F., Clerc-Renaud, P., Ferrero, C. A., Féraud, G., Franck, P. F., Gella, F. J., Hoelzel, W., Jørgensen, P. J., Kanno, T., Kessne, A., Klauker, R., Kristiansen, N., Lessinger, J. M., Linsinger, T. P., Misaki, H., Panteghini, M., Pauwels, J., Schimmel, H. G., ... Siekmann, L. (2002). IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37 degrees C. Part 2. Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of creatine kinase. *Clinical chemistry and laboratory medicine*, 40(6), 635–642. <https://doi.org/10.1515/CCLM.2002.110>

Shcharbin, D., Shcharbina, N., Milowska, K., de la Mata, F. J., Muñoz-Fernandez, M. A., Mignani, S., Gomez-Ramirez, R., Majoral, J. P., & Bryszewska, M. (2014). Interference of cationic polymeric nanoparticles with clinical chemistry tests--clinical relevance. *International journal of pharmaceutics*, 473(1-2), 599–606. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2014.07.054>

Thomas, L. (1998). *Clinical Laboratory Diagnostics; Use and Assessment of Clinical Laboratory Results* (1 uppl). TH-Books Verlagsgesellschaft.

Torrente, C., Manzanilla, E. G., Bosch, L., Fresno, L., Rivera del Alamo, M., Andaluz, A., Saco, Y., & Ruiz de Gopegui, R. (2015). Plasma iron, C-reactive protein, albumin, and plasma fibrinogen concentrations in dogs with systemic inflammatory response syndrome: Iron and other biomarkers in dogs with SIRS. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care (San Antonio, Tex.: 2000)*, 25(5), 611-619. <https://doi.org/10.1111/vec.12340>

Wong, S. H., Johnson-Davis, K. L., Garrison, K., Rankin, J. D., & Muhammad, C. S. (2017). Everolimus TDM using thermo fisher QMS immunoassay on indiko, beckman DxC, AU680, and AU5800 analyzers. *Clinical Biochemistry*, 50(7-8), 425-430. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2016.12.003>

Övriga referenser

Thermo Fisher Scientific (2017). *Creatinine (Enzymatic)* [Produktdokumentation].

Thermo Fisher Scientific (2018). *Flexible system solutions with uncompromised level of performance* [Broschyr]. <https://www.thermofisher.com/document-connect/document-connect.html?url=https%3A%2F%2Fassets.thermofisher.com%2FTFS-Assets%2FCDD%2Fbrochures%2FIndiko%2520and%2520Indiko%2520Plus%2520Brochure.pdf&title=QnJvY2h1cmU6IEluZGlrbyBhbmQgSW5kaWtvIFBsdXMgLSBDbGluaWNhbCBhbmQgU3BlY2lhbHR5IENoZW1pc3RyeSBBbmFseXplcnMgW0VOXQ=>
≡ [31-03-21]

Thermo Scientific (u.å a). *MAS[®] Omni·CoreTM* [Produktblad].

Thermo Scientific (u.å b). *MAS[®] ChemTRAK·H* [Produktblad].

Bilagor

Bilaga 1: Antal observationer (antal prov), medelvärde av resultat från Indiko Plus respektive Cobas C111 samt P-värde för parat t-test utfört på gemensamma analyser på Indiko Plus och Cobas C111.

	Observationer	Medel Indiko	Medel Cobas	P-värde
Albumin (g/l)	40	28,7	35,1	<0,001
ALP (U/l)	40	120,1	115,0	0,031
ALT (U/l)	40	107,0	98,3	0,063
CRP (mg/l)	20	47,8	47,3	0,919
Fosfat (mmol/l)	12*	1,6	1,3	<0,001
Gallsyror (µmol/l)	40	60,6	68,1	0,771
Glukos (mmol/l)	40	5,0	6,0	<0,001
ISE Cl (mmol/l)	40	121,4	117,5	0,008
ISE K (mmol/l)	40	4,7	4,4	0,002
ISE Na (mmol/l)	39	152,9	149,3	0,018
Kalcium (mmol/l)	40	2,5	2,6	0,161
Kreatinin (µmol/l)	40	92,0	105,0	0,002
Totalprotein (g/l)	40	61,9	76,1	<0,001

*Färre individer på grund av slut på reagens.