

VETSCAN®

Профіль для великої рогатої худоби / тварин - Large Animal Profile

Січень 2023

PN: 51631200

© 2023, Abaxis, Inc., Union City, CA 94587

1. Призначення

Реагентний ротор VetScan® Large Animal Profile, який використовується з аналізатором VetScan Whole Blood Analyzer, застосовує сухі та рідкі реагенти для *in vitro* кількісного визначення альбуміну (ALB), лужної фосфатази (ALP), аспартатамінотрансферази (AST), кальцію (CA⁺⁺), креатинкінази (СК), гамма-глутамілтрансферази (GGT), глобуліну* (GLOB), магнію (MG), неорганічного фосфору (PHOS), загального білка (TP) та азоту сечовини (BUN) у гепаринізованій цільній крові, гепаринізованій плазмі або сироватці.¹

* Розрахункове значення

2. Стислий опис досліджень

ПРИМІТКА: зразки великої рогатої худоби слід аналізувати як вид тварини «Other» (Інший) під час використання ротора Large Animal Profile. Метод визначення альбуміну (ALB) має специфічні калібрувальні коефіцієнти для великої рогатої худоби, збережені в цій ключовій функції. Додаткову інформацію дивіться в посібнику оператора VetScan.

Реагентний ротор VetScan Large Animal Profile та аналізатор VetScan Whole Blood Analyzer становлять діагностичну систему *in vitro*, яка допомагає ветеринару діагностувати такі порушення:

Альбумін	Захворювання печінки та нирок.
Лужна фосфатаза	Захворювання печінки, кісток, паразитоподібних залоз та кишечника.
Аспартатамінотрансфераза	Захворювання печінки, зокрема гепатит і вірусна жовтяниця; шок.
Кальцій	Патологія паразитоподібних залоз, кісток та хронічне захворювання нирок; тетанія.
Креатинкіназа	Інфаркт міокарда, прогресуюча м'язова дистрофія, дерматоміозит, судоми, захворювання серця, гіпотиреоз, інтенсивне фізичне навантаження, внутрішньом'язова ін'єкція, фізична бездіяльність та зменшена м'язова маса.
Гамма-глутамілтрансфераза	Захворювання печінки, первинні та вторинні пухлини печінки.
Магній	Захворювання нирок і порушення харчування.
Фосфор	Захворювання нирок, гіпаратиреоз та порушення харчування.
Загальний білок	Захворювання печінки, нирок, кісткового мозку; метаболічні та аліментарні порушення.
Азот сечовини	Захворювання нирок і метаболічні порушення.

Як і при будь-якій діагностичній процедурі, перед встановленням остаточного діагнозу слід враховувати всі інші дослідження, включно з клінічним станом пацієнта.

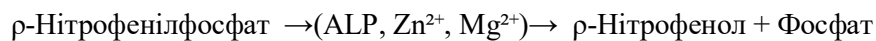
3. Принципи методики Альбумін (ALB)

Методи барвникового зв'язування є найбільш поширеними для вимірювання альбуміну. Бромкрезоловий зелений (BCG) — найчастіше використовуваний з методів барвникового зв'язування, однак він може завищувати концентрацію альбуміну, особливо в нижній частині нормального діапазону.²

$\text{BCG} + \text{Альбумін} \rightarrow (\text{Поверхнево-активні речовини, кисле рН}) \rightarrow \text{BCG-Альбуміновий комплекс}$
Зв'язаний альбумін пропорційний концентрації альбуміну у зразку. Це кінцева (endpoint) реакція, яка вимірюється як різниця поглинання між 600 нм і 550 нм.

Лужна фосфатаза (ALP)

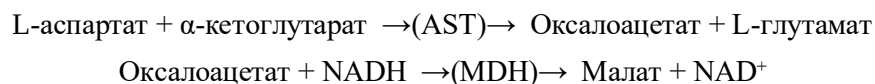
Методика Abaxis є модифікацією методів Американської асоціації клінічної хімії (AACC)³ та Міжнародної федерації клінічної хімії (IFCC)⁴, які використовують p-NPP як субстрат і буфер на основі металевих іонів. У цій реакції ALP гідролізує p-NPP у буфері з металевими іонами, утворюючи p-нітрофенол і фосфат.



Кількість ALP у зразку пропорційна швидкості зростання поглинання при 405 нм.

Аспаратамінотрансфераза (AST)

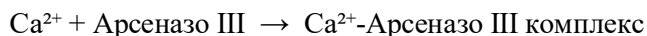
Метод AST компанії Abaxis є модифікацією референтного методу IFCC.^{5,6} Цей метод каталізує реакцію L-аспартату з α-кетоглутаратом з утворенням оксалоацетату та L-глутамату. Оксалоацетат перетворюється на малат, а NADH окислюється до NAD⁺ за допомогою каталізатора MDH.



Швидкість зміни поглинання при 340/405 нм, спричиненої перетворенням NADH на NAD⁺, прямо пропорційна кількості AST у зразку.

Кальцій (Ca⁺⁺)

Кальцій зразка пацієнта зв'язується з арсеназо III з утворенням комплексу кальцій-барвник.^{7,8}



Кінцева реакція контролюється при 405 нм, 467 нм і 600 нм. Кількість кальцію у зразку пропорційна поглинанню.

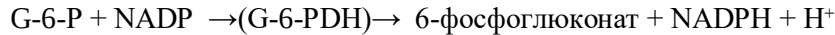
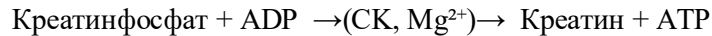
Креатинкіназа (СК)

Креатинкіназа каталізує оборотне фосфорилування креатину аденозинтрифосфатом (АТФ).⁹

Методика вимірювання СК, що використовується Abaxis, є модифікованою версією методу IFCC.¹⁰ Основні модифікації стосуються об'єму зразка, буфера та температури. N-ацетилцистеїн (NAC) додано для реактивації СК.¹¹ Магній використовується як кофактор для СК і гексокінази. EDTA додано як стабілізатор для NAC та для видалення різних катіонів, наприклад кальцію і заліза, які пригнічують СК. P¹,P⁵-ди(аденозин-5')-пентафосфат та аденозинмонофосфат (АМФ) також додані для пригнічення аденілаткінази — іншого ферменту скелетних м'язів та еритроцитів, який реагує із субстратами, що використовуються для вимірювання СК.

Креатинкіназа каталізує утворення креатину та аденозинтрифосфату (АТФ) з креатинфосфату та P¹,P⁵-ди(аденозин-5')-пентафосфату (ADP) при рН 6,7. За участю гексокінази як каталізатора АТФ реагує з D-глюкозою з утворенням ADP і D-глюкозо-6-фосфату (G-6-P), який реагує з

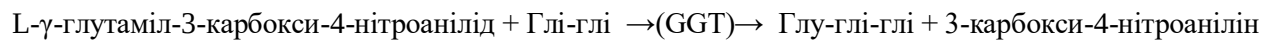
нікотинамідаденіндинуклеотидфосфатом (NADP) за наявності глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (G-6-PDH) з утворенням G-6-P та NADPH.



Утворення NADPH вимірюється як зміна поглинання при 340 нм відносно 405 нм. Ця зміна поглинання прямо пропорційна активності креатинкінази у зразку.

Гамма-глутамілтрансфераза (GGT)

Abaxis модифікувала метод IFCC, який використовує L-γ-глутаміл-3-карбокси-4-нітроанлід та гліцилгліцин¹² як другий субстрат¹³, для реакції при 37 °C. Додавання зразка, що містить гамма-глутамілтрансферазу, до субстратів L-γ-глутаміл-3-карбокси-4-нітроанліду та гліцилгліцину (глі-глі) спричиняє утворення L-γ-глутаміл-гліцилгліцину (глу-глі-глі) та 3-карбокси-4-нітроанліну.

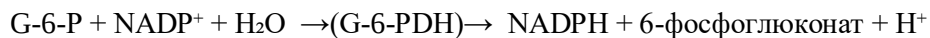


Поглинання цієї кінетичної реакції вимірюється при 405 нм. Утворення 3-карбокси-4-нітроанліну прямо пропорційне активності GGT у зразку.

Магній (MG)

Метод активації гексокінази для визначення магнію є найбільш підходящою системою з точки зору чутливості, точності та достовірності.¹⁴

Ферментативний метод визначення магнію можна записати так:

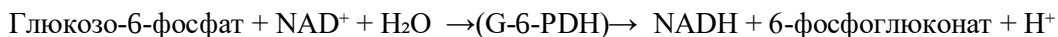
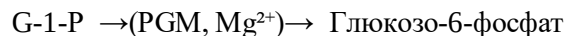
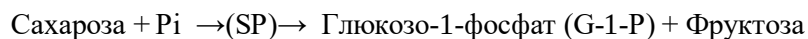


Лімітуючою стадією реакції є реакція гексокінази. Магній із сироватки активує гексокіназу, яка, у свою чергу, каталізує розщеплення глюкози з утворенням глюкозо-6-фосфату (G-6-P) та ADP.

Глюкозо-6-фосфат реагує з NADP⁺ з утворенням NADPH та 6-фосфоглюконату за наявності глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (G-6-PDH). Це реакція першого порядку. Концентрація магнію визначається шляхом вимірювання зростання поглинання NADPH при 340 нм.

Фосфор (PHOS)

Найбільш придатним ферментативним методом для системи Abaxis є сахарозофосфорилаза у поєднанні з фосфоглюкомутазою (PGM) та глюкозо-6-фосфатдегідрогеназою (G6PDH).^{15, 16} У цій ферментативній системі на кожен моль фосфору у зразку утворюється один моль NADH. Кількість утвореного NADH можна виміряти як кінцеву точку при 340 нм.



Загальний білок (TP)

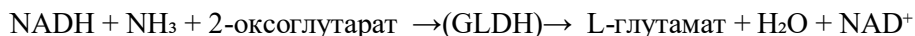
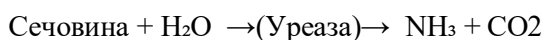
У біуретовій реакції розчин білка обробляють іонами міді(II) [Cu(II)] у сильнолужному середовищі. Тартрат натрію-калію та йодид калію додаються для запобігання осадженню гідроксиду міді та автовідновленню міді відповідно.¹⁷ Іони Cu(II) реагують з пептидними зв'язками між карбонільним киснем та амідним азотом з утворенням забарвленого Cu-білкового комплексу.



Кількість загального білка у зразку прямо пропорційна поглинанню Cu-білкового комплексу. Тест на загальний білок є кінцевою (endpoint) реакцією, а поглинання вимірюється як різниця поглинання між 550 нм і 850 нм.

Азот сечовини (BUN)

У системі Abaxis використовується сполучена ферментативна реакція. У цій реакції уреаза гідролізує сечовину до аміаку та вуглекислого газу.¹⁸ Після поєднання аміаку з 2-оксоглутаратом і відновленим нікотинамідаденіндинуклеотидом (NADH) фермент глутаматдегідрогеназа (GLDH) окислює NADH до NAD⁺.



Швидкість зміни різниці поглинання між 340 нм і 405 нм зумовлена перетворенням NADH на NAD⁺ і прямо пропорційна кількості сечовини у зразку.

4. Принцип роботи

Див. посібник оператора аналізатора VetScan® Chemistry Analyzer щодо принципів та обмежень методики.

5. Опис реагентів

Реагенти

Кожен реагентний ротор VetScan Large Animal Profile містить сухі реагентні гранули, специфічні для кожного тесту. Сухий реагент «холостої проби зразка» (buffer blank reagent), що складається з буфера, поверхнево-активних речовин, допоміжних речовин і консервантів, включений до кожного реагентного ротора для розрахунку концентрацій ALP, AST, CK, GGT та азоту сечовини (BUN). Окрема холоста проба включена до ротора для розрахунку рівня загального білка. Кожен реагентний ротор також містить розчинник, що складається з поверхнево-активних речовин і консервантів.

Таблиця 1. Реагенти

Компоненти	Вміст
Реагент альбуміну	
Бромкрезоловий пурпуровий	2 мкг
Буфер, поверхнево-активні речовини, допоміжні речовини та консерванти	
Реагент лужної фосфатази	
Хлорид магнію	3 мкг
Сульфат цинку	3 мкг
p-NPP	56 мкг
Буфери, поверхнево-активні речовини та допоміжні речовини	
Реагент аспартатамінотрансферази (AST)	
L-аспарагінова кислота	426 мкг
Лактатдегідрогеназа (LDH) (мікробна)	0,03 Од
β-нікотинамідаденіндинуклеотид, відновлений (NADH)	5 мкг
Малатдегідрогеназа (MDH) (серце свині)	0,01 мкг
α-кетоглутарат	28 мкг
Буфери, поверхнево-активні речовини, допоміжні речовини та консерванти	
Реагент кальцію	

Арсеназо III, натрієва сіль	3 мкг
Буфери, поверхнево-активні речовини та допоміжні речовини	
Реагент креатинкінази	
Аденозиндифосфат	31 мкг
Аденозинмонофосфат	33 мкг
P ¹ ,P ⁵ -ди(аденозин-5')-пентафосфат	0,2 мкг
Ацетат магнію, тетрагідрат	69 мкг
Гексокіназа	95904 Од
Глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа	79920 Од
NADP, натрієва сіль	104 мкг
EDTA, динатрієва сіль	12 мкг
N-ацетилцистеїн	52 мкг
Фосфокреатин	122 мкг
Буфер, поверхнево-активні речовини, допоміжні речовини та консерванти	
Реагент гамма-глутамілтрансферази	
Гліцилгліцин	317 мкг
L-глутамінова кислота γ-(3-карбокси-4-нітроанлід)	30 мкг
Буфер, поверхнево-активні речовини, допоміжні речовини та консерванти	
Магній	
EDTA, динатрієва сіль	0,00032 мг
NADP, натрієва сіль	0,0296 мг
Гексокіназа	0,0120 Од
Глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа	0,0220 Од
Фосфор	
NAD (вільна кислота)	0,043 мг
Ацетат магнію, тетрагідрат	0,007 мг
Глюкозо-1,6-дифосфат	0,001 мг
Глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа	0,023 Од
Фосфоглюкомутаза (кролик)	0,035 Од
Сахарозофосфорилаза	0,070 Од

Компоненти	Вміст
Реагент загального білка	
Тартрат натрію-калію	343 мкг
Сульфат міді(II)	134 мкг
Йодид калію	28 мкг
Поверхнево-активні речовини, допоміжні речовини та консерванти	
Холоста проба загального білка	
Тартрат натрію-калію	343 мкг
Йодид калію	28 мкг
Поверхнево-активні речовини, допоміжні речовини та консерванти	

Попередження та застереження

- Тільки для in vitro діагностичного застосування.

- Контейнер з розчинником у реагентному роторі автоматично відкривається, коли закривається шухляда аналізатора. Ротор з відкритим контейнером розчинника не можна використовувати повторно. Перед закриттям шухляди переконайтеся, що зразок або контроль вже поміщено в ротор.
- Реагентні гранули можуть містити кислоти або їдкі речовини. Оператор не контактує з реагентними гранулами при дотриманні рекомендованих процедур. У разі контакту з гранулами (наприклад, під час прибирання після падіння або тріщини ротора) уникайте потрапляння всередину, на шкіру або вдихання.
- Реагентні гранули та розчинник містять азид натрію, який може реагувати зі свинцевими та мідними трубами з утворенням вибухонебезпечних азидів металів. Реагенти не контактують із свинцевими та мідними трубами при дотриманні рекомендованих процедур. Однак якщо реагенти все ж потрапили на такі труби, промийте великою кількістю води, щоб запобігти накопиченню азиду.

Інструкції з поводження з реагентами

Реагентні ротори можна використовувати одразу з холодильника без попереднього нагрівання. Не допускайте, щоб ротори залишалися за кімнатної температури довше 48 годин. Відкрийте запаяний фольгований пакет і вийміть ротор, уникаючи торкання кільця зі штрих-кодом, розташованого зверху ротора. Використовуйте згідно з інструкціями, наведеними в посібнику оператора системи VetScan. Ротор, не використаний протягом 20 хвилин після відкриття пакета, слід утилізувати. Ротори з відкритих пакетів не можна повертати назад у холодильник для подальшого використання.

Зберігання

Зберігайте реагентні ротори в запаяних пакетах при температурі 2–8 °C (36–46 °F). Не піддавайте відкриті або закриті ротори впливу прямого сонячного світла або температур вище 32 °C (90 °F). Щоб використати реагентні ротори, вийміть ротори з запаяних фольгованих пакетів з холодильника. Переконайтеся, що сумарний час перебування роторів поза холодильником (у запаяних пакетах) не перевищує 48 годин. Відкривайте пакет і виймайте ротор безпосередньо перед використанням.

Ознаки нестабільності або погіршення якості реагентного ротора

- Усі реагенти в реагентному роторі за умови зберігання, описаного вище, стабільні до дати закінчення терміну придатності, вказаної на пакеті ротора. Не використовуйте ротор після закінчення терміну придатності. Дата закінчення терміну придатності також закодована у штрих-коді, надрукованому на кільці зі штрих-кодом. Якщо реагенти прострочені, на дисплеї аналізатора VetScan Whole Blood Analyzer з'явиться повідомлення про помилку.
- Розірваний або іншим чином пошкоджений пакет може пропускати вологу до невикористаного ротора та негативно впливати на роботу реагентів. Не використовуйте ротор із пошкодженого пакета.
- Після відкриття пакета огляньте пакетик з осушувачем, доданий до реагентного ротора. Синя смужка на зворотному боці пакетика з осушувачем свідчить про те, що в пакеті підтримувалась належна відносна вологість. Рожева смужка означає, що ротор зазнав надмірного впливу вологи в пакеті (наприклад, через прокол), і такий ротор не слід використовувати.

6. Прилад

Див. посібник оператора системи VetScan щодо повної інформації про використання аналізатора, включно з встановленням, характеристиками продуктивності, застереженнями та обмеженнями експлуатації, обслуговуванням і технічним доглядом.

7. Забір і підготовка зразка

Мінімальний необхідний обсяг зразка становить ~90 мкл гепаринізованої цільної крові, гепаринізованої плазми, сироватки або контрольної сироватки. Камера для зразка реагентного ротора може вмістити до 120 мкл зразка.

- Зразок, зібраний у гепаринізовану мікропіпетку, слід **негайно** дозувати у реагентний ротор після забору.
- Використовуйте лише вакуумні пробірки для забору зразків з літій-гепарином (зелена кришка) для цільної крові або плазми. Використовуйте вакуумні пробірки без добавок (червона кришка) або пробірки-сепаратори сироватки (червона або червоно-чорна кришка) для зразків сироватки.
- Зразки цільної крові, отримані шляхом венепункції, повинні бути гомогенними перед перенесенням зразка в реагентний ротор. Обережно перевертайте пробірки для забору кілька разів безпосередньо перед перенесенням зразка. **Не** струшуйте пробірку для забору. Струшування може спричинити гемоліз.
- Тест необхідно розпочати протягом 10 хвилин після перенесення зразка в реагентний ротор.
- Зразки, отримані шляхом венепункції цільної крові, слід аналізувати протягом 60 хвилин після забору.¹⁹ Якщо зразок неможливо проаналізувати протягом 60 хвилин, його можна відокремити на плазму або сироватку і зберігати в закритих пробірках для зразків при температурі 2–8 °C (36–46 °F).

Відомі речовини-перешкоди

- Єдиним антикоагулянтом, рекомендованим для використання з аналізатором VetScan Whole Blood Analyzer, є літій-гепарин.
- Фізичні перешкоди (гемоліз, іктеричність та ліпемія) спричиняють зміни у зареєстрованих концентраціях деяких аналітів. Індeksi зразка друкуються внизу кожної результатної картки, щоб інформувати оператора про рівні перешкоджаючих факторів у кожному зразку. Аналізатор VetScan Whole Blood Analyzer приховує будь-які результати, на які суттєво впливають гемоліз, ліпемія або іктеричність. Замість результату на картці друкується, відповідно, «HEM», «LIP» або «ICT».
- Креатинкіназа інактивується як яскравим денним світлом, так і підвищенням рН зразка внаслідок втрати вуглекислого газу. Відповідно, зразки слід зберігати в темряві у щільно закритих пробірках.²⁰

8. Процедура

Надані матеріали

- Один реагентний ротор VetScan® Large Animal Reagent Rotor

Матеріали, необхідні, але не надані

- Аналізатор цільної крові VetScan Whole Blood Chemistry Analyzer

Параметри тесту

Система VetScan® працює за температури навколишнього середовища від 15 °C до 32 °C (59–90 °F). Час аналізу для кожного реагентного ротора VetScan® Large Animal Reagent Rotor становить менше 14 хвилин. Аналізатор підтримує температуру реагентного ротора на рівні 37 °C (98,6 °F) протягом усього періоду вимірювання.

Процедура тестування

Повна процедура забору зразка та покрокова робоча процедура детально описані в посібнику оператора системи VetScan.

Калібрування

Аналізатор VetScan Whole Blood Analyzer калібрується виробником перед відвантаженням. Штрих-код, надрукований на кільці зі штрих-кодом, надає аналізатору калібрувальні дані, специфічні для ротора. Див. посібник оператора системи VetScan.

Контроль якості

Контролі можуть періодично прогонятися на аналізаторі VetScan Whole Blood Analyzer для перевірки точності аналізатора. Abaxis рекомендує використовувати комерційно доступний контроль на основі сироватки. Реагентні ротори, що використовуються для контролів, слід готувати так само, як і для зразків пацієнтів. Див. посібник оператора системи VetScan щодо запуску контролів.

9. Результати

Аналізатор VetScan Whole Blood Analyzer автоматично розраховує та друкує концентрації аналітів у зразку. Деталі розрахунків кінцевої точки (endpoint) та швидкості реакції наведені в посібнику оператора системи VetScan.

Інтерпретація результатів детально описана в посібнику оператора VetScan. Результати друкуються на результатних картках, наданих компанією Abaxis. Результатні картки мають клейку основу для зручного розміщення в картці пацієнта.

10. Обмеження методики

Загальні процедурні обмеження описані в посібнику оператора системи VetScan.

- Якщо результат конкретного тесту перевищує діапазон аналізу, зразок слід проаналізувати іншим затвердженим методом тестування або надіслати до референтної лабораторії. **Не** розводьте зразок і не прогоняйте його повторно на аналізаторі VetScan Whole Blood Analyzer.
- Зразки з гематокритом, що перевищує 62–64% об'єму упакованих еритроцитів, можуть давати неточні результати. Зразки з високим гематокритом можуть бути позначені як гемолізовані. Такі зразки можна відцентрифугувати для отримання плазми, а потім повторно прогнати в новому реагентному роторі.

11. Характеристики продуктивності

Лінійність

Хімічна реакція для кожного аналіту є лінійною в межах динамічного діапазону, вказаного нижче, коли система VetScan® експлуатується згідно з рекомендованою процедурою (див. посібник оператора системи VetScan).

Таблиця 1: Динамічні діапазони VetScan

Аналіт	Динамічний діапазон (загальноприйняті одиниці)	Динамічний діапазон (одиниці CI)
ALB_BCG	1–6,5 г/дл	10–65 г/л
ALP	5–2400 Од/л	5–2400 Од/л
AST	5–2000 Од/л	5–2000 Од/л
CA++	4–16 мг/дл	1,0–4,0 ммоль/л
CK	5–14000 Од/л	5–14000 Од/л
GGT	5–3000 Од/л	5–3000 Од/л
GLOB*	1–11 г/дл	10–110 г/л

MG	0–8 мг/дл	0–3,29 ммоль/л
PHOS	0–20 мг/дл	0–6,46 ммоль/л
TP	2–14 г/дл	20–140 г/л
BUN	2–180 мг/дл	0,7–64,3 ммоль сечовини/л

* Розрахункове значення

12. Бібліографія

(Бібліографічні джерела наведено мовою оригіналу відповідно до наукової практики цитування — назви статей і журналів не перекладаються, щоб зберегти точність посилань.)

1. Howe PE. 1921. The used of sodium sulfate as the globulin precipitant in the determination of protein in blood. J Biol Chem 49:93-107.
2. Webster D, AHC Bignell, EC Atwood. An assessment on the suitability of bromocresol green for the determination of serum albumin. Clin Chim Acta 1974;53:101-108.
3. Tietz NW, CA Burtis, P Duncan, et al. A reference method for measurement of alkaline phosphatase activity in human serum. Clin Chem 1983;29:751-61.
4. Bowers, GN Jr, HU Bergmeyer, et al. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part I. General considerations concerning the determination of the catalytic concentration of an enzyme in the blood serum or plasma of man. Clin Chem Acta 1974;98:163F-74F.
5. Bergmeyer, HU, GN Bowers Jr, et al. Provisional recommendations on IFCC methods of catalytic concentrations of enzymes, Part 2. IFCC method for aspartate aminotransferase. Clin Chem 1977;23: 887-99.
6. Bergmeyer, HU, M Horder, et al. Provisional recommendations on IFCC methods for the measurement of catalytic concentrations of enzymes. Part 2. Revised IFCC method for aspartate aminotransferase. Clin Chem 1978;24: 720-1.
7. Kessler G, M Wolfman. An Automated procedure for the simultaneous determination of calcium and phosphorus. Clin Chem 1964;10: 686-703.
8. Michaylova V, P Ilkova. Photometric determination of micro amounts of calcium with arsenazo III. Anal Chim Acta 1971;53: 194-8.
9. Tanzer MI, Gilvarg C. Creatine and Creatine Kinase Measurement. J Biol Chem 1959;234: 3201-4.
10. Expert Panel On Enzymes, Committee Of Standards (IFCC). Approval Recommendations Of IFCC Methods For The Measurement Of Catalytic Concentrations Of Enzymes, Part 1. General Considerations. Clin Chim Acta, IFCC Sections: 1979; 98:163-74.
11. Committee On Enzymes Of The Scandinavian Society For Clinical Chemistry And Clinical Physiology. Recommended Method For The Determination Of Creatine Kinase In Blood. Scand J. Clin Lab Invest 1976;36: 711-23.
12. Goldbarg JA, OM Friedman, EP Pineda, et al. The colorimetric determination of γ -glutamyl transpeptidase with a synthetic substrate. Arch Biochem Biophys 1960;91: 61-70.
13. Shaw LM, JH Stromme, JL London, et al. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 4 IFCC method for γ -glutamyl-transferase. J Clin Chem Clin Biochem 1983;21:633-46.
14. Tabata M, Kido M, Totani M, et al. Direct Spectrophotometry of Magnesium in Serum after Reaction with Hexokinase and Glucose-6-phosphate-Dehydrogenase. Clin Chem 1985; 31:703-5.
15. Schulz DW, Passonneau JV, Lowry OH. An Enzymic Method for the Measurement of Inorganic Phosphate Determination Anal Biochem 1967;19:300-14.
16. Tedokon, M Suzuki, K Kayamori, et al. Enzymatic Assay of Inorganic Phosphate with Use of Sucrose Phosphorylase and Phosphoglucomutase. Clin Chem 1992;38:512-5.
17. Weichselbaum TE. An accurate and rapid method for the determination of proteins in small amounts of blood serum and plasma. Am J Clin Path 1946;16: 40-49.

18. Sampson, EJ MA Baird, CA Burtis, EM Smith, DL Witte, and DD Bayse. 1980. A coupled-enzyme equilibrium method for measuring urea in serum: optimization and evaluation of the AACC study group on urea candidate reference method. Clin Chem 26: 816-826.
19. National Committee for Clinical Laboratory (NCCLS). 1984. Procedures for Handling and Processing of Blood Specimens; Tentative Standard. NCCLS document H18-T. Villanova, PA: NCCLS; pp. 219.
20. Moss DW, Henderson AR. 1994. Enzymes. In: CA Burtis and ER Ashwood, eds. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd edition. Philadelphia: WB Saunders Company. 804.