

VETSCAN®

Профіль печінки ссавців - Mammalian Liver Profile

Січень 2023

PN: 51630800

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

1. Призначення

Реагентний ротоп VetScan® Mammalian Liver Profile, який використовується з аналізатором VetScan Chemistry Analyzer, застосовує сухі та рідкі реагенти для ветеринарного *in vitro* кількісного визначення аланінамінотрансферази (ALT), альбуміну (ALB), лужної фосфатази (ALP), жовчних кислот (BA), загального білірубину (TBIL), загального холестерину (CHOL), гамма-глутамілтрансферази (GGT) та азоту сечовини (крові) (BUN) у гепаринізованій цільній крові, гепаринізованій плазмі або сироватці.

2. Стислий опис досліджень

Реагентний ротоп VetScan Mammalian Liver Profile та аналізатор VetScan Chemistry Analyzer становлять діагностичну систему *in vitro*, яка допомагає ветеринару діагностувати такі порушення:

Аланінамінотрансфераза (ALT)	Захворювання печінки, зокрема вірусний гепатит і цироз; захворювання серця.
Альбумін (ALB)	Захворювання печінки та нирок.
Лужна фосфатаза (ALP)	Захворювання печінки, кісток, паразитоподібних залоз та кишечника.
Жовчні кислоти (BA)	Гепатобіліарні захворювання; портосистемна судинна аномалія (PSVA); позапечінкове шунтування.
Загальний білірубін (TBIL)	Патологія печінки.
Загальний холестерин (CHOL)	Виявлення гіперліпідемії; скринінговий тест на гіпотиреоз та гіперадренокортицизм.
Гамма-глутамілтрансфераза (GGT)	Захворювання печінки, первинні та вторинні пухлини печінки.
Азот сечовини (BUN)	Захворювання печінки та нирок.

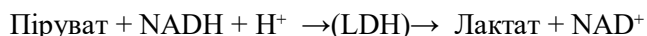
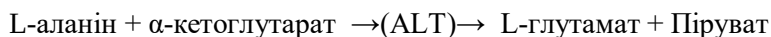
Як і при будь-якій діагностичній процедурі, перед встановленням остаточного діагнозу слід враховувати всі інші дослідження, включно з клінічним станом пацієнта.

3. Принципи методики

Аланінамінотрансфераза

Метод, розроблений для використання на аналізаторі VetScan Chemistry Analyzer, є модифікацією процедури Wróblewski та LaDue, рекомендованої Міжнародною федерацією клінічної хімії (IFCC).^{1,2}

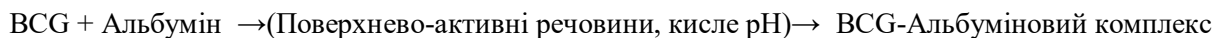
У цій реакції ALT каталізує перенесення аміногрупи від L-аланіну до α -кетоглутарату з утворенням L-глутамату та пірувату. Лактатдегідрогеназа каталізує перетворення пірувату на лактат. Одночасно NADH окислюється до NAD^+ , як показано на наведеній нижче схемі реакції.



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

Альбумін

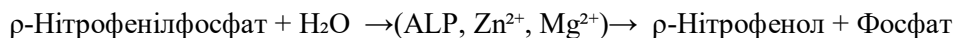
Методи барвникового зв'язування є найбільш поширеними для вимірювання альбуміну. Бромкрезоловий зелений (BCG) — найчастіше використовуваний з методів барвникового зв'язування.³



Зв'язаний альбумін пропорційний концентрації альбуміну у зразку. Це кінцева (endpoint) реакція, яка вимірюється бихроматично при 630 нм і 405 нм.

Лужна фосфатаза

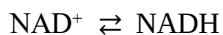
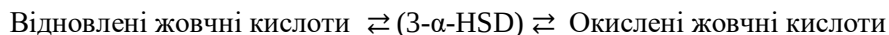
Методика VetScan є модифікацією методів AACC та IFCC.⁴ Лужна фосфатаза гідролізує p-NPP у буфері з металевими іонами, утворюючи p-нітрофенол і фосфат. Використання p-нітрофенілфосфату (p-NPP) підвищує швидкість реакції.^{5,6} Надійність цієї методики значно підвищується завдяки використанню буфера з металевими іонами для підтримання концентрації іонів магнію та цинку в реакції.⁷ Референтний метод Американської асоціації клінічної хімії (AACC) використовує p-NPP як субстрат і буфер на основі металевих іонів.⁸



Кількість ALP у зразку пропорційна швидкості зростання різниці поглинання між 405 нм і 500 нм.

Жовчні кислоти

За наявності тіо-похідної нікотинамідаденіндинуклеотиду (Thio-NAD⁺) фермент 3-α-гідроксистероїддегідрогеназа (3-α-HSD) оборотно окислює жовчні кислоти до окислених жовчних кислот (3-α-кето форм) з одночасним перетворенням Thio-NAD⁺ на його відновлену форму (Thio-NADH). У циклічній реакції окислені жовчні кислоти повертаються до відновленого стану за наявності надлишку NADH. NADH перетворюється на NAD⁺. У системі Abaxis Thio-NAD⁺, NADH і 3-α-HSD постачаються у вигляді сухих реагентних гранул. Циклічна реакція підсилює рівень жовчних кислот у зразку. Вимірюється швидкість зростання поглинання при 405 нм (Thio-NADH), пропорційна концентрації жовчних кислот у зразку. Швидкість вимірюється бихроматично при 405 і 500 нм.



Загальний білірубін

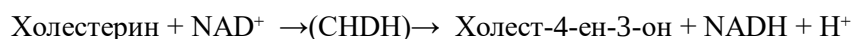
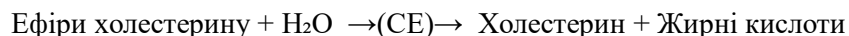
Рівень загального білірубину зазвичай вимірювали за допомогою тестів із застосуванням діазотованої сульфанілової кислоти.^{9,10} Було розроблено новіший, більш специфічний метод з використанням ферменту білірубіноксидази.^{11–13} Крім використання більш специфічного методу визначення загального білірубину, фотодеградація аналіту мінімізується завдяки тому, що зразок можна тестувати одразу після забору.

У ферментативній процедурі білірубін окислюється білірубіноксидазою до білівердину. Кількість білірубину визначається як різниця поглинання між 467 нм і 550 нм. Початкове поглинання цієї кінцевої (endpoint) реакції визначається за холостою кюветою білірубину, а кінцеве поглинання отримується з тестової кювети білірубину. Кількість білірубину в зразку пропорційна різниці між початковим і кінцевим вимірюваннями поглинання.



Загальний холестерин

Аналіз CHOL Abaxis Piccolo є ферментативним методом кінцевої точки (endpoint), що використовує холестеролестеразу (CE) та холестеролдегідрогеназу (CHDH).¹⁴



CE гідролізує ефіри холестерину з утворенням холестерину та жирних кислот. Реакція CHDH перетворює холестерин на холест-4-ен-3-он. NADH вимірюється бихроматично при 340 нм і 405 нм. Утворення NADH прямо пропорційне кількості холестерину у зразку. Також контролюється холоста проба, специфічна для аналізу, щоб забезпечити відсутність сторонніх реакцій, що впливають на розрахунки рівня CHOL.

Гамма-глутамілтрансфераза

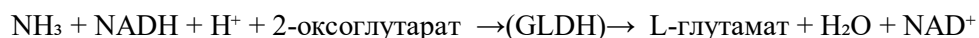
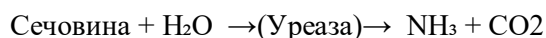
Перші кількісні методи, розроблені для вимірювання гамма-глутамілтрансферази (GGT), передбачали проведення другої реакції з утворенням азобарвника у поєднанні з хромофором.^{15, 16} Перехід на L-γ-глутаміл-п-нітроанлід як субстрат реакції усунув необхідність окремого етапу утворення барвника.¹⁷ Через погану розчинність і стабільність L-γ-глутаміл-п-нітроанліду цю методику модифікували з використанням субстрату L-γ-глутаміл-3-карбокси-4-нітроанліду.¹⁸ Метод визначення GGT, рекомендований Міжнародною федерацією клінічної хімії (IFCC), базується на останньому субстраті, а гліцилгліцин виступає другим субстратом.¹⁹

Abaxis модифікувала метод IFCC 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.

$\text{L-}\gamma\text{-глутаміл-3-карбокси-4-нітроанлід} + \text{Глі-глі} \rightarrow (\text{GGT}) \rightarrow \text{Глу-глі-глі} + \text{3-карбокси-4-нітроанлін}$
Поглинання цієї кінетичної реакції вимірюється при 405 нм. Утворення 3-карбокси-4-нітроанліну прямо пропорційне активності GGT у зразку.

Азот сечовини

У системі Abaxis використовується сполучена ферментативна реакція. У цій реакції уреаза гідролізує сечовину до аміаку та вуглекислого газу.²⁰ 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 Mammalian Liver 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 аланінамінотрансферази, альбуміну, лужної фосфатази, жовчних кислот, загального білірубину, загального холестерину, гамма-глутамілтрансферази та азоту сечовини (крові). Окремі холості проби зразка включені до ротора для розрахунку концентрацій загального білірубину та загального холестерину. Кожен реагентний ротор також містить розчинник, що складається з поверхнево-активних речовин і консервантів.

Попередження та застереження

- Тільки для ветеринарного 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.
- Деякі реагентні гранули 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. Відкрийте запаяний фольгований пакет і вийміть ротор, уникаючи торкання кільця зі штрих-кодом, розташованого зверху ротора. Використовуйте згідно з інструкціями, наведеними в посібнику оператора 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). Не допускайте, щоб ротори, запаяні у фольгованих пакетах, залишалися за кімнатної температури довше 48 годин перед використанням. 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 Chemistry Analyzer з'явиться повідомлення про помилку.

Ознаки нестабільності або погіршення якості реагентного ротора (продовження)

- Розірваний або іншим чином пошкоджений пакет може пропускати вологу до невикористаного ротора та негативно впливати на роботу реагентів. Не використовуйте ротор із пошкодженого пакета.

6. Прилад

Див. посібник оператора VetScan щодо повної інформації про використання аналізатора.

7. Збір і підготовка зразка

Мінімальний необхідний обсяг зразка становить ~100 мкл гепаринізованої цільної крові, гепаринізованої плазми, сироватки або контролю. Камера для зразка реагентного ротора може вмістити до 120 мкл зразка.

- Зразки, зібрані 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; якщо це неможливо, відокремте зразок і перенесіть його в чисту пробірку.²¹ Аналізуйте відокремлену плазму або сироватку протягом 5 годин після центрифугування. Якщо це неможливо, зберігайте зразок у закритій пробірці при температурі 2–8 °C (36–46 °F) не довше 48 годин. Зразок плазми або сироватки можна зберігати при -10 °C (14 °F) до 5 тижнів у морозильній камері без циклу автоматичного розморожування.
- **Результати визначення загального білірубіну** можуть зазнавати негативного впливу фотодеградації.²² Зразки цільної крові, які не аналізуються негайно, слід зберігати в темряві не довше 60 хвилин. Якщо зразок неможливо проаналізувати протягом цього періоду, його слід відокремити на плазму або сироватку та зберігати в закритій пробірці для зразків у темряві за низьких температур.²³

Відомі речовини-перешкоди

Єдиним антикоагулянтом, рекомендованим для використання з аналізатором VetScan Chemistry Analyzer, є літій-гепарин. Натрій-гепарин не можна використовувати під час забору зразків крові для цієї панелі. Abaxis провела дослідження, які демонструють, що EDTA, фторид, оксалат та будь-який антикоагулянт, що містить іони амонію, впливатимуть щонайменше на один показник у реагентному роторі VetScan Mammalian Liver Profile.

- Фізичні перешкоди (гемоліз, іктеричність та ліпемія) можуть спричиняти 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 «HEM», «LIP» або «ICT».

8. Процедура

Надані матеріали

- Один реагентний ротор VetScan Mammalian Liver Profile Reagent Rotor, PN: 500-1040 (упаковка з 10 роторів, PN: 500-0040)

Матеріали, необхідні, але не надані

- Аналізатор VetScan 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 Mammalian Liver Profile 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 VetScan.

Калібрування

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

Контроль якості

Контролі можуть періодично прогонятися на аналізаторі VetScan Chemistry Analyzer для перевірки точності аналізатора. Abaxis рекомендує використовувати комерційно доступний контроль на основі сироватки. Прогоняйте контролі на реагентному роторі так само, як і зразки пацієнтів. Див. посібник оператора VetScan щодо запуску контролів.

9. Результати

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

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.**
- Зразки з гематокритом, що перевищує 60% об'єму упакованих еритроцитів, можуть давати неточні результати. Зразки з високим гематокритом можуть бути позначені як гемолізовані. Такі зразки можна відцентрифугувати, а отриману плазму повторно прогнати в новому реагентному роторі.

Попередження: Розширене тестування аналізатора VetScan Chemistry Analyzer показало, що у дуже рідкісних випадках зразок, дозований у реагентний ротор, може не потрапляти рівномірно в камеру для зразка. Через нерівномірний потік може бути проаналізована недостатня кількість зразка, і кілька результатів можуть виходити за межі встановлених референтних діапазонів. Зразок можна повторно прогнати, використовуючи новий реагентний ротор.

11. Очікувані значення

Наведені нормальні інтервали надані лише як орієнтир. Найточніші референтні інтервали — це ті, що встановлені для вашої популяції пацієнтів. Результати тестів слід інтерпретувати з

урахуванням клінічних ознак пацієнта. Щоб налаштувати специфічні нормальні діапазони на вашому аналізаторі VetScan Chemistry Analyzer для банку «Other» (Інший), зверніться до посібника оператора VetScan, розділ «Menu Key».

Таблиця 1: Референтні інтервали

	Собаки	Коти	Коні
ALT	10 – 118 Од/л (10 – 118 Од/л)*	20 – 100 Од/л (20 – 100 Од/л)	5 – 20 Од/л (5 – 20 Од/л)
ALB	2,5 – 4,4 г/дл (25 – 44 г/л)	2,2 – 4,4 г/дл (22 – 44 г/л)	2,2 – 3,7 г/дл (22 – 37 г/л)
ALP	20 – 150 Од/л (20 – 150 Од/л)	10 – 90 Од/л (10 – 90 Од/л)	50 – 170 Од/л (CI = 50 – 170 Од/л)
BA²⁴	Натще: 1 – 4 мкмоль/л (1 – 4 мкмоль/л) Через 2 год після їжі: 2 – 15 мкмоль/л (2 – 15 мкмоль/л) Порогове значення: 25 мкмоль/л** (25 мкмоль/л)	Натще: 1 – 3 мкмоль/л (1 – 3 мкмоль/л) Через 2 год після їжі: 7 – 9 мкмоль/л (7 – 9 мкмоль/л) Порогове значення: 25 мкмоль/л** (25 мкмоль/л)	Натще: н/д Після їжі: н/д Порогове значення: 25 мкмоль/л** (25 мкмоль/л)
TBIL	0,1 – 0,6 мг/дл (2 – 10 мкмоль/л)	0,1 – 0,6 мг/дл (2 – 10 мкмоль/л)	0,5 – 2,3 мг/дл (9 – 39 мкмоль/л)
CHOL	125 – 270 мг/дл (3,2 – 7,0 ммоль/л)	90 – 205 мг/дл (2,3 – 5,3 ммоль/л)	50 – 140 мг/дл (1,3 – 3,6 ммоль/л)
GGT	0 – 7 Од/л (0 – 7 Од/л)	0 – 2 Од/л (0 – 2 Од/л)	5 – 24 Од/л (5 – 24 Од/л)
BUN	7 – 25 мг/дл (2,5 – 8,9 ммоль/л)	10 – 30 мг/дл (3,6 – 10,7 ммоль/л)	7 – 25 мг/дл (2,5 – 8,9 ммоль/л)

* (одиниці CI)

** Порогові значення для жовчних кислот (BA) встановлені для 100% специфічності при чутливості 74% для собак і котів. Див. Ettinger & Feldman, посилання 24, стор. 1288-1290.

12. 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 VetScan). Наведена нижче таблиця динамічних діапазонів відображає спектр значень, які може визначити система VetScan. **Наведені нижче інтервали не є нормальними (референтними) діапазонами.**

Таблиця 2: Динамічні діапазони VetScan

Аналіт	Динамічний діапазон (загальноприйняті одиниці)	Динамічний діапазон (одиниці CI)
ALT	5 – 2000 Од/л	5 – 2000 Од/л
ALB	1 – 6,5 г/дл	10 – 65 г/л
ALP	5 – 2400 Од/л	5 – 2400 Од/л
BA	1 – 140 мкмоль/л	1 – 140 мкмоль/л
TBIL	0,1 – 30 мг/дл	1,7 – 513 мкмоль/л
CHOL	20 – 520 мг/дл	0,5 – 13,5 ммоль/л
GGT	5 – 3000 Од/л	5 – 3000 Од/л
BUN	2 – 180 мг/дл	0,7 – 64,3 ммоль сечовини/л

13. Бібліографія

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

1. Wróblewski F, LaDue. Serum glutamic-pyruvic transaminase in cardiac and hepatic disease. Proc Soc Exp Biol Med 1956; 91: 569-71.
2. Bergmeyer HU, Horder M. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 3. IFCC method for alanine aminotransferase. J Clin Chem Clin Biochem 1980;18: 521-34.
3. Webster D, et al. An assessment on the suitability of bromocresol green for the determination of serum albumin. Clin Chim Acta 1974; 53: 101-8.
4. Bowers GN, et al. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 1. General considerations concerning the determination of the catalytic concentration of an enzyme in the blood serum or plasma of man. Clin Chim Acta 1979; 98: 163F-74F.
5. Ohmori Y. Über die Phosphomomesterase. Enzymologia 1937; 4: 217-31.
6. Fujita H. Über die Mikrobestimmung der Blutphosphatase. J Biochem, Japan 1937; 30: 69-87.
7. Petittclerc C, et al. Mechanism of action of Mg^{2+} and Zn^{2+} on rat placental alkaline phosphatase. I. Studies on the soluble Zn^{2+} and Mg^{2+} alkaline phosphatase. Can J Biochem 1975; 53: 1089-1100.
8. Tietz NW, et al. A reference method for measurement of alkaline phosphatase activity in human serum. Clin Chem 1983; 29: 751-61.
9. Malloy HT, Evelyn KA. The determination of bilirubin with the photoelectric colorimeter. J Biol Chem 1937; 119: 481-90.
10. Meites S. Bilirubin, direct reacting and total, modified Mally-Evelyn method. In: Selected Methods of Clinical Chemistry. Faulkner WR, Meites S, eds. Washington, DC: American Association for Clinical Chemistry. 1982: 119-24.
11. Murao S, Tanaka N. A new enzyme "bilirubin oxidase" produced by *Myrothecium verrucaria* MT-1. Agric Biol Chem 1981; 45: 2383-4.
12. Osaki S, Anderson S. Enzymatic determination of bilirubin. Clin Chem 1982; 30: 971 (Abstract).
13. Perry B, et al. Measurement of total bilirubin by use of bilirubin oxidase. Clin Chem 1986; 32: 329-32.
14. Kayamori, Y, et al. Endpoint colorimetric method for assaying total cholesterol in serum with cholesterol dehydrogenase. Clin Chem 1999; 45: 2158-2163.
15. Ball EG, Revel JP, Cooper O. The quantitative measurement of γ -glutamyl transpeptidase activity. J Biol Chem 1956; 221: 895-908.
16. Goldbarg JA, et al. The colorimetric determination of γ -glutamyl transpeptidase with a synthetic substrate. Arch Biochem Biophys 1960; 91: 61-70.
17. Orłowski M, Meister A. γ -glutamyl-p-nitroanilide: A new convenient substrate for determination and study of k- and d- γ -glutamyltransferase activities. Biochem Biophys Acta 1963; 73: 679-681.
18. Persijn JP, van der Slik W. A new method for the determination of γ -glutamyl-transferase in serum. J Clin Chem Clin Biochem 1976; 14: 421-427.
19. Shaw LM, et al. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 4 IFCC method for γ -glutamyl-transferase. J Clin Chem Clin Biochem 1983; 21: 633-646.
20. Sampson, et al. A coupled-enzyme equilibrium method for measuring urea in serum: optimization and evaluation of the AACC study group on urea candidate reference method. Clin Chem 1980; 26: 816-826.
21. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Procedures for handling and processing of blood specimens; approved guideline-2nd ed. NCCLS Document H18-A2. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
22. Sherwin JE, Obernolte R. Bilirubin. In: Clinical Chemistry: Theory, Analysis and Correlation, 2nd ed. Kaplan LA, Pesce AJ, eds. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 1009-1015.

23. Henry RJ, Canon DC, Winkelman. Clinical Chemistry Principles and Technics, 2nd ed. New York: Harper and Row; 1974; 417-21 & 127-8.
24. Leveille-Webster CR. Chapter 141. Laboratory diagnosis of hepatobiliary disease. In: Textbook of Veterinary Internal Medicine, Vol 2, 5th ed. Ettinger SJ, Feldman EC, eds. St. Louis: W.B. Saunders Company. 2000: 1288-1290.