

VetScan®

Невідкладна допомога плюс - Critical Care Plus

Січень 2023

Номер деталі (PN): 51630500

© 2023, Abaxis, Inc., Юніон-Сіті, Каліфорнія, 94587

1. Призначення

Реагентний ротор VetScan® Critical Care Plus, що використовується з аналізатором VetScan Chemistry Analyzer, призначений для ветеринарного кількісного визначення *in vitro* аланінамінотрансферази, хлориду, креатиніну, глюкози, калію, натрію, загального вуглекислого газу та азоту сечовини в гепаринізованій цільній крові, гепаринізованій плазмі або сироватці.

2. Резюме та пояснення тестів

Реагентний ротор VetScan Critical Care Plus та аналізатор VetScan Chemistry Analyzer становлять систему діагностики *in vitro*, яка допомагає ветеринару в діагностиці таких захворювань:

Аланінамінотрансфераза	Захворювання печінки, включно з вірусним гепатитом і цирозом; захворювання серця.
Хлорид	Хронічна діарея, хронічне блювання, захворювання нирок, захворювання паразитоподібних залоз, хронічний респіраторний ацидоз або алкалоз, гіперадренокортицизм, гіпоадренокортицизм і терапія тіазидами.
Креатинін	Захворювання нирок і моніторинг ниркового діалізу.
Глюкоза	Порушення вуглеводного обміну, включно з цукровим діабетом дорослих і ювенільним цукровим діабетом, а також гіпоглікемія.
Калій	Захворювання ниркових клубочків або каналців, надниркова недостатність, діабетичний кетоацидоз, надмірна внутрішньовенна терапія калієм, сепсис, пангіпопітуїтаризм, гемоліз <i>in vitro</i> , гіперальдостеронізм, недоїдання, гіперінсулінізм, метаболічний алкалоз і шлунково-кишкові втрати.
Натрій	Зневоднення, нецукровий діабет, втрата гіпотонічних шлунково-кишкових рідин, отруєння сіллю, вибіркове пригнічення відчуття спраги, втрати через шкіру, опіки, потовиділення, гіперальдостеронізм, порушення з боку ЦНС, дилуційна, деплеційна та ілюзорна гіпонатріємія, а також синдром неадекватної секреції АДГ.
Загальний вуглекислий газ	Первинний метаболічний алкалоз і ацидоз, а також первинний респіраторний алкалоз і ацидоз.
Азот сечовини	Захворювання нирок і метаболічні захворювання.

Як і за будь-якої діагностичної процедури, перед встановленням остаточного діагнозу слід враховувати всі інші результати обстежень, включно з клінічним станом пацієнта.

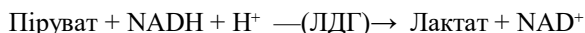
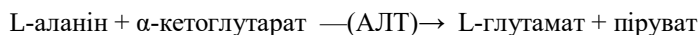
3. Принцип процедури

Аланінамінотрансфераза (АЛТ)

Аланінамінотрансферазу (АЛТ) визначають трьома методами. Два з них — колориметричний метод сполучення з динітрофенілгідразином^{1,2} та флуоресцентний ферментативний аналіз — використовуються

рідко.³ Ферментативний метод, заснований на роботі Вроблевського та Ла Дью⁴, є найпоширенішою технікою визначення концентрації АЛТ у сироватці. Модифікована процедура Вроблевського та Ла Дью була запропонована як рекомендована процедура Міжнародної федерації клінічної хімії (IFCC).⁵

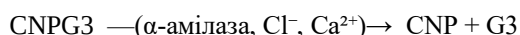
Метод, розроблений для використання на аналізаторі VetScan, є модифікацією процедури, рекомендованої IFCC. У цій реакції АЛТ каталізує перенесення аміногрупи від L-аланіну до α -кетоглутарату з утворенням L-глутамату та пірувату. Лактатдегідрогеназа каталізує перетворення пірувату на лактат. При цьому NADH окиснюється до NAD⁺, як показано на наведеній нижче реакційній схемі.



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

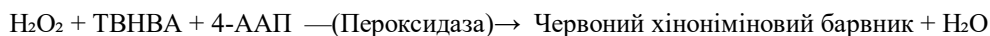
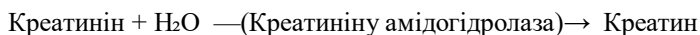
Хлорид (Cl⁻)

Метод базується на визначенні хлорид-залежної активації активності α -амілази. Деактивована α -амілаза реактивується шляхом додавання хлорид-іона, що дозволяє кальцію повторно зв'язатися з ферментом. Реактивація активності α -амілази пропорційна концентрації хлорид-іонів у пробі. Реактивована α -амілаза перетворює субстрат 2-хлор-р-нітрофеніл- α -D-мальтотриозид (CNPG3) на 2-хлор-р-нітрофеніл (CNP), утворюючи забарвлення, та α -мальтотриозу (G3). Реакція вимірюється бихроматично, і зростання поглинання прямо пропорційне реактивованій активності α -амілази та концентрації хлорид-іона в пробі.⁶



Креатинін (КРЕ)

Метод Яффе, вперше запропонований у 1886 році, і досі широко використовується для визначення рівня креатиніну в крові. Сучасний референтний метод поєднує використання фулерової землі (флоридину) з методикою Яффе для підвищення специфічності реакції.^{7, 8} Були розроблені ферментативні методи, більш специфічні для креатиніну, ніж різні модифікації методики Яффе.^{9, 10, 11} Методи з використанням ферменту креатиніну амідогідролази усувають проблему інтерференції іонів амонію, характерну для методів із застосуванням креатиніну іміногідролази.¹²

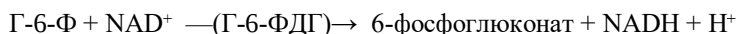
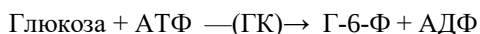


Для визначення концентрації креатиніну в пробі використовуються дві кювети. Ендогенний креатин вимірюється в бланковій кюветі, значення якої віднімається від сумарного значення ендогенного креатину та креатину, утвореного в результаті ферментативних реакцій у тестовій кюветі. Після виключення ендогенного креатину з розрахунків концентрація креатиніну стає пропорційною інтенсивності утвореного червоного забарвлення. Кінцева реакція вимірюється як різниця поглинання між 550 нм і 600 нм.

Глюкоза (ГЛЮ)

Вимірювання концентрації глюкози спочатку здійснювалося за допомогою методів мідної редукції (таких як методи Фоліна-Ву¹³ та Сомоджі-Нельсона^{14, 15}). Недостатня специфічність методів мідної редукції призвела до розробки кількісних методик з використанням ферментів гексокінази та глюкозооксидази. Тест на глюкозу, включений до реагентного ротора Critical Care Plus, є модифікованою версією гексокіназного методу, запропонованого як основа референтного методу визначення глюкози.¹⁶

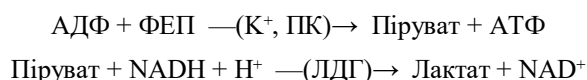
Реакція глюкози з аденозинтрифосфатом (АТФ), що каталізується гексокіназою (ГК), утворює глюкозо-6-фосфат (Г-6-Ф) і аденозиндифосфат (АДФ). Глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа (Г-6-ФДГ) каталізує перетворення Г-6-Ф на 6-фосфоглюконат зі відновленням нікотинамідаденіндинуклеотиду (NAD⁺) до NADH.



Калій (K⁺)

Були розроблені спектрофотометричні методи, що дозволяють вимірювати концентрацію калію на стандартному клінічному хімічному обладнанні. Ферментативний метод, заснований на активації піруваткінази калієм, демонструє відмінну лінійність і незначну чутливість до ендогенних речовин.^{17, 18, 19} Інтерференцію з боку натрію та іонів амонію мінімізовано завдяки додаванню відповідно криптофіксу та глутамінсинтетази.¹⁷

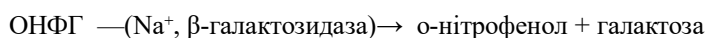
У реакції зі спряженими ферментами піруваткіназа (ПК) дефосфорилує фосфоенолпіруват (ФЕП) з утворенням пірувату. Лактатдегідрогеназа (ЛДГ) каталізує перетворення пірувату на лактат. При цьому NADH окиснюється до NAD⁺.



Швидкість зміни різниці поглинання між 340 нм і 405 нм зумовлена перетворенням NADH на NAD⁺ і прямо пропорційна кількості калію в пробі.

Натрій (Na⁺)

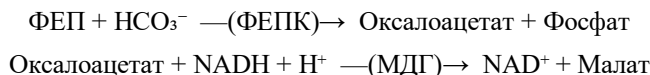
Були розроблені колориметричні та ферментативні методи, що дозволяють вимірювати концентрацію натрію на стандартному клінічному хімічному обладнанні.^{20, 21, 22} У ферментативній реакції Abaxis β-галактозидаза активується натрієм у пробі. Активованій фермент каталізує реакцію о-нітрофеніл-β-D-галактопіранозиду (ОНФГ) з утворенням о-нітрофенолу та галактози.



Загальний вуглекислий газ (tCO₂)

Загальний вуглекислий газ у сироватці або плазмі присутній у вигляді розчиненого вуглекислого газу, карбаміно-похідних білків, іонів бікарбонату та карбонату, а також вугільної кислоти. Загальний вуглекислий газ можна вимірювати за допомогою pH-індикатора, CO₂-електрода та спектрофотометричних ферментативних методів, які всі дають точні й прецизійні результати.^{23, 24} Ферментативний метод добре підходить для використання на рутинному аналізаторі хімії крові без додаткового ускладнення.

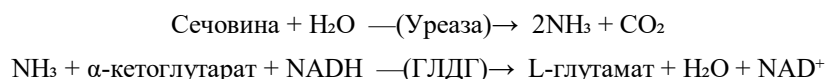
У ферментативному методі пробу спочатку олужнюють, щоб перетворити всі форми вуглекислого газу (CO₂) на бікарбонат (HCO₃⁻). Фосфоенолпіруват (ФЕП) і HCO₃⁻ потім реагують з утворенням оксалоацетату та фосфату в присутності фосфоенолпіруваткарбоксилази (ФЕПК). Малатдегідрогеназа (МДГ) каталізує реакцію оксалоацетату з відновленим нікотинамідаденіндинуклеотидом (NADH) з утворенням NAD⁺ і малату. Швидкість зміни поглинання, зумовлена перетворенням NADH на NAD⁺, прямо пропорційна кількості tCO₂ в пробі.



Азот сечовини (АСК)

Сечовину можна вимірювати як прямим, так і непрямим методом. Реакція з діацетилмоноксидом — єдиний прямий метод визначення сечовини — широко застосовується, але використовує небезпечні реагенти.²⁵ Непрямі методи вимірюють аміак, утворений із сечовини; використання ферменту уреази підвищило специфічність цих тестів.²⁶ Аміак кількісно визначають різними методами, включно з несселеризацією (кислотним титруванням), методом Бергто^{27, 28} та реакціями зі спряженими ферментами.^{29, 30} Однак каталізовані процедури Бергто є нестабільними під час вимірювання аміаку.³¹ Реакції зі спряженими ферментами є швидкими, мають високу специфічність до аміаку і широко застосовуються. Одну з таких реакцій запропоновано як референтний метод-кандидат.³²

У реакції зі спряженими ферментами уреаза гідролізує сечовину до аміаку та вуглекислого газу. Після поєднання аміаку з α-кетоглутаратом і відновленим нікотинамідаденіндинуклеотидом (NADH) фермент глутаматдегідрогеназа (ГЛДГ) окиснює NADH до NAD⁺.



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

4. Принцип роботи

Див. Посібник оператора аналізатора VetScan Chemistry Analyzer щодо принципів та обмежень процедури.

5. Опис реагентів

Реагенти

Кожен реагентний ротор VetScan Critical Care Plus містить сухі гранули реагентів, специфічні для кожного тесту (описано нижче). У кожен ротор включено сухий бланковий реагент проби (що складається з буфера, поверхнево-активних речовин, допоміжних речовин і консервантів) для використання при розрахунку концентрацій аланінамінотрансферази (АЛТ), хлориду, глюкози, калію, натрію, загального вуглекислого газу та азоту сечовини. Спеціальна бланкова проба включена в ротор для визначення креатиніну (КРЕ). Кожен ротор також містить розчинник, що складається з поверхнево-активних речовин і консервантів.

Попередження та застереження

- Тільки для діагностичного використання in vitro.
- Контейнер із розчинником у реагентному роторі автоматично відкривається при закритті лотка аналізатора. Ротор із відкритим контейнером розчинника не можна використовувати повторно. Переконайтеся, що проба або контроль поміщені в ротор до закриття лотка.
- Використані реагентні ротори містять біологічні рідини тварин. Дотримуйтеся правил належної лабораторної безпеки під час поводження з використаними роторами та їх утилізації.³³ Інструкції з очищення біологічно небезпечних розливів див. у Посібнику оператора VetScan Chemistry Analyzer.
- Реагентні ротори виготовлені з пластику і можуть тріснути або відколотися в разі падіння. Ніколи не використовуйте впущений ротор, оскільки це може призвести до розбризкування біологічно небезпечного матеріалу всередині аналізатора.
- Гранули реагентів можуть містити кислоти або їдкі речовини. При дотриманні рекомендованих процедур оператор не контактує з гранулами реагентів. У разі, якщо доводиться контактувати з гранулами (наприклад, під час прибирання після падіння та розтріскування реагентного ротора), уникайте потрапляння гранул реагентів усередину, на шкіру або їх вдихання.
- Проби з високою концентрацією амілази можуть давати хибно завищені показники хлориду.
- Усі реагенти, що містяться в реагентному роторі, за умов зберігання, описаного вище, залишаються стабільними до терміну придатності, вказаного на пакеті ротора. Не використовуйте ротор після закінчення терміну придатності. Термін придатності також заведений у штрих-код, надрукованому на кільці зі штрих-кодом. Якщо термін придатності реагентів минув, на дисплеї аналізатора VetScan Whole Blood Analyzer з'явиться повідомлення про помилку.

Інструкції з поводження з реагентами

Реагентні ротори можна використовувати безпосередньо з холодильника без попереднього нагрівання. Не залишайте ротори, запечатані у фольгованих пакетах, за кімнатної температури довше ніж 48 годин до використання. Відкрийте запечатаний фольгований пакет, вийміть ротор і використовуйте відповідно до інструкцій, наведених у Посібнику оператора VetScan Chemistry Analyzer. **Ротор, не використаний протягом 20 хвилин після відкриття пакета, слід утилізувати.**

Зберігання

Зберігайте реагентні ротори в запечатаних пакетах при температурі 2–8 °C (36–46 °F). Не піддавайте відкриті або невідкриті ротори впливу прямого сонячного світла або температур вище 32 °C (90 °F). Реагентні ротори можна використовувати до терміну придатності, вказаного на упаковці. Термін придатності також заведений у штрих-код, надрукованому на кільці зі штрих-кодом. Якщо термін

придатності реагентів минув, на дисплеї аналізатора VetScan Chemistry Analyzer з'явиться повідомлення про помилку.

Ознаки нестабільності/погіршення якості реагентного ротора

Розірваний або іншим чином пошкоджений пакет може дозволити вологості потрапити до невикористаного ротора та негативно вплинути на роботу реагентів. Не використовуйте ротор із пошкодженого пакета.

6. Прилад

Повну інформацію щодо використання аналізатора див. у Посібнику оператора VetScan Chemistry Analyzer.

7. Забір і підготовка проби

Методи забору проб описані в розділі «Забір проби» Посібника оператора VetScan Chemistry Analyzer.

- Мінімальний необхідний обсяг проби становить приблизно 100 мкл гепаринізованої цільної крові, гепаринізованої плазми, сироватки або контрольного матеріалу. Камера для проби реагентного ротора може вмістити до 120 мкл проби.
- Проби цільної крові, отримані шляхом венепункції, мають бути однорідними перед перенесенням проби в реагентний ротор. Обережно перевертайте пробірку для забору кілька разів безпосередньо перед перенесенням проби. Не **струшуйте** пробірку для забору; струшування може спричинити гемоліз.
- Гемоліз може спричинити хибно завищені результати аналізу калію. Ця проблема може залишитися непоміченою під час аналізу цільної крові (вивільнення калію лише з 0,5 % еритроцитів може підвищити рівень калію в сироватці на 0,5 ммоль/л). Крім того, навіть негемолізовані проби, які не були оперативним оброблені, можуть мати підвищений рівень калію через внутрішньоклітинний витік калію.³⁴
- Проби цільної крові, отримані шляхом венепункції, слід аналізувати протягом 60 хвилин після забору.³⁵ **Глюкоза:** на концентрацію впливає час, що минув з моменту прийому їжі пацієнтом, а також тип зібраної проби. Для точного визначення результатів глюкози проби слід отримувати від пацієнта, який голодував щонайменше 12 годин. Концентрація глюкози знижується приблизно на 5–12 мг/дл за 1 годину в невідцентрифугованих пробах, що зберігаються за кімнатної температури.³⁶
- Охолодження проб цільної крові може спричинити суттєві зміни концентрацій **креатиніну** та **глюкози**.³⁷ Якщо пробу неможливо проаналізувати протягом 60 хвилин, її можна відокремити на плазму або сироватку та зберігати в закритих пробірках при температурі 2–8 °C (36–46 °F).
- Для проб цільної крові або плазми використовуйте лише вакуумні пробірки для забору проб з літій-гепарином (зелений ковпачок). Для проб сироватки використовуйте вакуумні пробірки без добавок (червоний ковпачок) або пробірки з розділювальним гелем для сироватки (червоний або червоно-чорний ковпачок).
- Розпочніть тест протягом 10 хвилин після перенесення проби в реагентний ротор.
- Проби з концентрацією амілази понад 4000 Од/л даватимуть хибно завищені показники хлориду.
- Концентрація загального вуглекислого газу визначається найточніше, якщо аналіз проводиться одразу після відкриття пробірки та якомога швидше після забору й обробки крові в закритій пробірці. Навколишнє повітря містить значно менше вуглекислого газу, ніж плазма, тому розчинений газоподібний вуглекислий газ виходитиме з проби в повітря, що призводить до зниження значення вуглекислого газу до 6 ммоль/л протягом 1 години.³⁸

8. Процедура

Комплект постачання

- Один реагентний ротор VetScan Critical Care Plus, номер деталі: 500-1042 (упаковка з 12 роторів, номер деталі: 500-0042-12)

Необхідні матеріали, що не входять до комплекту

- Аналізатор VetScan Chemistry Analyzer

Параметри тестування

Аналізатор VetScan Chemistry Analyzer працює за температури навколишнього середовища від 15 °C до 32 °C (59–90 °F). Тривалість аналізу для кожного реагентного ротора VetScan Critical Care Plus становить менше 14 хвилин. Аналізатор підтримує температуру реагентного ротора на рівні 37 °C (98,6 °F) протягом усього періоду вимірювання.

Процедура тестування

Повна процедура відбору проб, а також покрокові інструкції з експлуатації докладно описані в Посібнику оператора VetScan Chemistry Analyzer.

Калібрування

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

Контроль якості

Роботу аналізатора VetScan Chemistry Analyzer можна перевірити шляхом аналізу контролів.

Детальний опис проведення аналізу, реєстрації, інтерпретації та побудови графіків результатів контролю див. у Посібнику оператора VetScan Chemistry Analyzer.

9. Результати

Аналізатор VetScan Chemistry Analyzer автоматично розраховує та друкує концентрації аналітів у пробі. Детальну інформацію щодо розрахунків кінцевої точки та швидкості реакції можна знайти в Посібнику оператора VetScan Chemistry Analyzer.

Детальний опис інтерпретації результатів наведено в Посібнику оператора. Результати друкуються на картках результатів, що постачаються Abaxis. Картки результатів мають клейку основу для зручного розміщення в картці пацієнта.

10. Обмеження методу

Загальні обмеження методу описані в Посібнику оператора VetScan Chemistry Analyzer.

- Єдиним антикоагулянтом, **рекомендованим для використання** із системою VetScan Chemistry System, є **літій-гепарин**. Abaxis провела дослідження, які показали, що ЕДТА, фторид, оксалат і будь-який антикоагулянт, що містить іони амонію, впливатимуть щонайменше на один показник у реагентному роторі VetScan Critical Care Plus.
- Проби з гематокритом (об'ємна частка еритроцитів) понад 62 % можуть давати неточні результати. Такі проби з високим гематокритом можуть повідомлятися як гемолізовані. Такі проби можна відцентрифугувати для отримання плазми та повторно проаналізувати на новому реагентному роторі.
- Будь-який результат для певного тесту, що перевищує діапазон аналізу, слід перевірити за допомогою іншого затвердженого методу тестування або надіслати до референтної лабораторії. Не розводьте пробу та не аналізуйте її повторно на аналізаторі VetScan Chemistry Analyzer.

Увага: комплексні випробування системи VetScan Chemistry System показали, що у дуже рідкісних випадках проба, внесена в реагентний ротор, не потрапляє безперешкодно до вимірювальної камери. Через нерівномірний потік може бути проаналізовано недостатній обсяг проби, і кілька результатів можуть виходити за межі референтних діапазонів. Пробу можна повторно проаналізувати за допомогою нового реагентного ротора.

Інтерференція

Речовини були перевірені на предмет інтерференції з аналітами. Були підготовлені пули людської сироватки. Концентрація, за якої тестувався кожен потенційний інтерферент, ґрунтувалася на рівнях тестування, наведених у NCCLS EP7-P.³⁹

Вплив ендогенних речовин

- Фізіологічні інтерференти (гемоліз, іктеричність та ліпемія) спричиняють зміни у визначених концентраціях деяких аналітів. Індекси проби виводяться внизу кожної картки результатів, щоб інформувати оператора про рівні інтерферентів, присутніх у кожній пробі. Система VetScan Chemistry System приховує будь-які результати, на які суттєво впливають гемоліз, ліпемія або іктеричність. У таких випадках замість результату на картці результатів друкується відповідно «HEM», «LIP» або «ICT».
- Надзвичайно високий рівень амілази (понад 9000 Од/л) суттєво впливатиме на результат визначення хлориду, спричиняючи його зростання більш ніж на 10 %. Концентрація амілази системою VetScan для кожної проби не оцінюється.
- Аналіз калію в системі VetScan є спряженим аналізом з піруваткіназою (ПК) / лактатдегідрогеназою (ЛДГ). Тому в разі значної травми м'язів або значно підвищеного рівня креатинкінази (КК) система VetScan може визначити хибно завищене значення калію (K⁺). У таких випадках несподівано високі значення калію необхідно підтвердити за допомогою іншого методу.

11. Робочі характеристики

Лінійність

Хімічна реакція для кожного аналіту є лінійною в межах динамічного діапазону, наведеного нижче, за умови експлуатації аналізатора VetScan Chemistry Analyzer відповідно до рекомендованої процедури (див. Посібник оператора VetScan Chemistry Analyzer).

Таблиця 1: Динамічні діапазони системи VetScan

Аналіт	Звичайні одиниці	СІ-одиниці
Аланінамінотрансфераза	5–2000 U/L	5–2000 U/L
Хлорид	80–135 ммоль/л	80–135 ммоль/л
Креатинін	0,2–20 мг/дл	18–1768 мкмоль/л
Глюкоза	10–700 мг/дл	0,6–38,9 ммоль/л
Калій	1,5–8,5 ммоль/л	1,5–8,5 ммоль/л
Натрій	110–170 ммоль/л	110–170 ммоль/л
Загальний вуглекислий газ	5–40 ммоль/л	5–40 ммоль/л
Азот сечовини	2–180 мг/дл	0,7–64,3 ммоль сечовини/л

Чутливість (межі виявлення)

Нижня межа звітованого (динамічного) діапазону для кожного аналіту становить: аланінамінотрансфераза — 5 Од/л; хлорид — 80 ммоль/л; креатинін — 0,2 мг/дл (18 мкмоль/л); глюкоза — 10 мг/дл (0,56 ммоль/л); калій — 1,5 ммоль/л; натрій — 110 ммоль/л; загальний вуглекислий газ — 5 ммоль/л; азот сечовини — 2,0 мг/дл (0,7 ммоль сечовини/л).

12. Список літератури

1. Tonhazy NE, White NG, Umbreit WW. A rapid method for the estimation of the glutamic-aspartic transaminase in tissues and its application to radiation sickness. Arch Biochem 1950; 28: 36-42.
2. Reitman S, Frankel S. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases. Am J Clin Pathol 1957; 28: 56-63.

3. Murray RL. Alanine aminotransferase. In: Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation, 2nd ed. Kaplan LA, Pesce AP, eds. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 895-898.
4. Wróblewski F, LaDue JS. Serum glutamic-pyruvic transaminase in cardiac and hepatic disease. *Proc Soc Exp Biol Med* 1956; 91: 569-571.
5. Bergmeyer HU, M Horder. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 3. IFCC method for alanine aminotransferase. *J Clin Chem Clin Biochem* 1980; 18: 521-534.
6. Ono T, et al. A new enzymatic assay of chloride in serum. *Clin Chem* 1988; 34: 552-553.
7. Knoll VE, et al. Spezifische kreatininbestimmung im serum. *Z Klin Chemi Clin Biochem.* 1970; 8: 582-587.
8. Haeckel R, et al. Simplified determinations of the "true" creatinine concentration in serum and urine. *J Clin Chem Clin Biochem.* 1980; 18: 385-394.
9. Moss GA, et al. Kinetic enzymatic method for determining serum creatinine. 1975; 21: 1422-1426.
10. Jaynes PK, et al. An enzymatic, reaction-rate assay for serum creatinine with a centrifugal analyzer. 1982; 28: 114-117.
11. Fossati P, et al. Enzymatic creatinine assay: a new colorimetric method based on hydrogen peroxide measurement. 1983; 29: 1494-1496.
12. Whelton A, et al. Nitrogen metabolites and renal function. In: Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd Ed. Burtis CA, Ashwood ER, eds. Philadelphia: W.B. Saunders Company. 1994: 1513-1575.
13. Folin O, et al. A system of blood analysis. *J Biol Chem.* 1919; 38: 81-110.
14. Somogyi M. A reagent for the copper-iodometric determination of very small amounts of sugar. *J Biol Chem.* 1937; 117: 771-776.
15. Nelson N, et al. A photometric adaption of the Somogyi method for the determination of glucose. *J Biol.* 1944; 153: 375-380.
16. Kaplan LA. Glucose. In: Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation, 2nd ed. Kaplan LA, AJ Pesce AJ, eds. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 850-856.
17. Berry MN, et al. Enzymatic determination of potassium in serum. *Clin Chem* 1989; 35: 817-820.
18. Van Pelt J. Enzymatic determination of sodium, potassium and chloride in serum compared with determination by flame photometry, coulometry and ion selective electrodes. *Clin Chem* 1994; 40: 846-847.
19. Hubl W, et al. Enzymatic determination of sodium, potassium and chloride in abnormal (hemolyzed, icteric, lipemic, paraproteinemic, or uremic) serum samples compared with indirect determination with ion selective electrodes. *Clin Chem* 1994; 40: 1528-1531.
20. Helgerson RC, et al. Host-guest Complexation. 50. Potassium and sodium ion-selective chromogenic ionophores. *J Amer Chem Soc* 1989; 111: 6339-6350.
21. Kumar A, et al. Chromogenic ionophore-based methods for spectrophotometric assay of sodium and potassium in serum and plasma. *Clin Chem* 1988; 34: 1709-1712.
22. Berry MN, et al. Enzymatic determination of sodium in serum. *Clin Chem* 1988; 34: 2295-2298.
23. Skeggs LT Jr. An automatic method for the determination of carbon dioxide in blood plasma. *Am J Clin Pathol* 1960; 33: 181-185.
24. Korzun WJ, Miller WG. Carbon Dioxide. In: Clinical chemistry theory, analysis and correlation, 2nd ed. Kaplan LA, Pesce AJ, eds. St. Louis: The CV Mosby Company. 1989: 869-872.
25. Fales FW. Urea in serum, direct diacetyl monoxime method. In: Selected Methods of Clinical Chemistry, Vol 9. Faulkner WR, Meites S, eds. Washington, D.C.: American Association for Clinical Chemistry. 1982: 365-373.
26. Van Slyke, et al. A permanent preparation of urease, and its use in the determination of urea. *J Biol Chem*, 1914; 19: 11-228.
27. Fawcett JK, et al. A rapid and Precise method for the determination of urea. *J Clin Pathol*, 1960; 13: 156-159.
28. Chaney, et al. Urea and ammonia determinations. *Clin Chem*, 1962; 8: 130-132.

29. Talke H, et al. Enzymatische harnstoffbestimmung in blut und serum im optischen Test nach Warburg. *Klin Wochensh*, 1965; 43: 174-175.
30. Hallett, et al. Reduced nicotinamide adenine dinucleotide-coupled reaction for emergency blood urea estimation. *Clin Chim Acta*, 1971; 35: 33-37.
31. Patton, et al. Spectrophotometric and kinetics investigation of the Berthelot reaction for the determination of ammonia. *Anal Chem*, 1977; 49: 464-469.
32. Sampson EJ, et al. A coupled-enzyme equilibrium method for the measuring urea in serum: optimization and evaluation of the AACC study group on Urea Candidate reference method. *Clin Chem*, 1980; 26: 816-826.
33. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Physician's office laboratory guidelines, tentative guideline, 2nd ed. NCCLS Document POL1-T2. Wayne, PA: NCCLS, 1992.
34. Scott MG. Electrolytes and Blood Gases. In: *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. 3rd ed. Burtis CA, Ashwood ER, eds. Philadelphia: WB Saunders Company. 1999: 1058-1059.
35. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Procedures for the handling and processing of blood specimens; tentative standard. NCCLS Document H18-A2. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
36. Overfield CV, et al. Glycosis: a re-evaluation of the effect on blood glucose. *Clin Chim Acta* 1972; 39: 35-40.
37. Rehak NN, Chiang BT. Storage of whole blood: effect of temperature on the measured concentration of analytes in serum. *Clin Chem* 1988; 34: 2111-4.
38. Scott MG. Electrolytes and Blood Gases. In: *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. 3rd ed. Burtis CA, Ashwood ER, eds. Philadelphia: WB Saunders Company. 1999: 1065-1066.
39. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Interference testing in clinical chemistry; proposed guideline. NCCLS Document EP7-A. Wayne, PA: NCCLS, 2002.