

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

Maggio 2006
N. parte: 500-7124, Rev. C
© 2002, Abaxis, Inc., Union City, CA 94587, U.S.A.

1. Uso previsto

Il rotore reagente Profilo prep VetScan® II usato con l'analizzatore chimico VetScan impiega reagenti secchi e liquidi per fornire determinazioni quantitative *in vitro* di alanino aminotransferasi (ALT), fosfatasi alcalina (ALP), creatinina (CRE), glucosio (GLU), proteine totali (TP) e azoto ureico (BUN) in sangue intero eparinizzato, plasma eparinizzato o siero.

2. Sommario e spiegazione dei test

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

Alanino aminotransferasi	Malattie epatiche, incluse epatite virale e cirrosi, cardiopatie.
Fosfatasi alcalina	Malattie epatiche, ossee, paratiroidi e intestinali.
Creatinina	Malattia renale.
Glucosio	Diabete, iperglicemia, ipoglicemia e malattia epatica.
Proteine totali	Disidratazione, malattia renale, epatica, disturbi metabolici e nutrizionali.
Azoto ureico ematico	Malattie epatiche e renali.

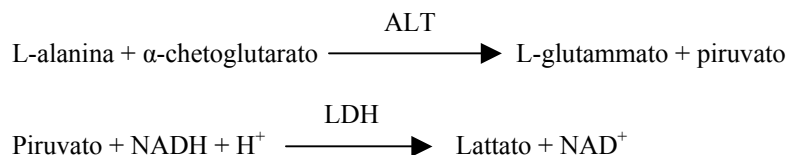
Come per ogni test diagnostico, prima della diagnosi definitiva è opportuno considerare tutte le altre procedure di analisi, incluso lo stato clinico del paziente.

3. Principi della procedura

Alanino aminotransferasi (ALT)

Il metodo sviluppato per l'uso sull'analizzatore chimico VetScan è una modifica della procedura Wróblewski e LaDue raccomandata dalla International Federation of Clinical Chemistry (IFCC).^{1,2}

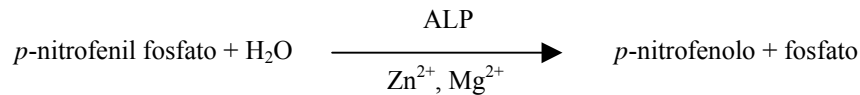
In questa reazione, ALT catalizza il trasferimento di un amminogruppo da L-alanina ad α -chetoglutarato per formare L-glutammato e piruvato. La lattato deidrogenasi catalizza la conversione del piruvato in lattato. Al contempo, l' NADH viene ossidato in NAD^+ , come illustrato nello schema di reazione seguente.



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

Fosfatasi alcalina (ALP)

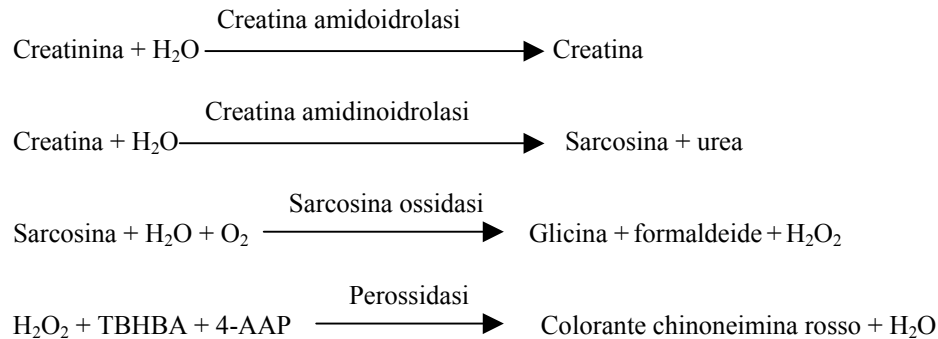
La procedura VetScan è modificata rispetto ai metodi AACC ed IFCC.³ La fosfatasi alcalina idrolizza *p*-NPP in un tampone a ioni metallici e forma *p*-nitrofenolo e fosfato. L'uso di *p*-nitrofenil fosfato (*p*-NPP) aumenta la velocità della reazione.^{4,5} L'uso di un tampone a ioni metallici per mantenere la concentrazione di ioni magnesio e zinco nella reazione, accresce notevolmente l'affidabilità di questa tecnica.⁶ Il metodo di riferimento della American Association for Clinical Chemistry (AACC) utilizza *p*-NPP come substrato e un tampone a ioni metallici.⁷



La quantità di ALP presente nel campione è proporzionale alla velocità di aumento nella differenza di assorbanza tra 405 nm e 500 nm.

Creatinina (CRE)

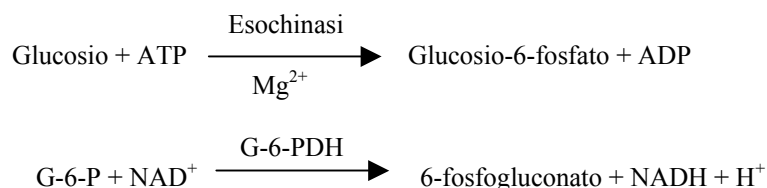
Il metodo Jaffe, originariamente introdotto nel 1886, è tuttora comunemente usato per determinare i livelli di creatinina nel sangue. L'attuale metodo di riferimento abbina l'uso di terra di Fuller (floridina) e la tecnica di Jaffe per incrementare la specificità della reazione.^{8,9} Sono stati messi a punto metodi enzimatici che risultano più specifici per la creatinina di quanto non lo siano le diverse varianti della tecnica di Jaffe.^{10,11,12} I metodi basati sull'enzima creatinina amidoidrolasi eliminano il problema dell'interferenza dello ione ammonio che si riscontra nelle tecniche che utilizzano creatinina iminoidrolasi.¹³



Per determinare la concentrazione di creatinina nel campione si utilizzano due cuvette. La creatina endogena viene misurata nella cuvetta in bianco, che viene sottratta dalla combinazione di creatina endogena e creatina formata dalle reazioni enzimatiche nella cuvetta del test. Una volta eliminata dai calcoli la creatina endogena, la concentrazione di creatinina è proporzionale all'intensità del colore rosso sviluppato. La reazione di endpoint è data dalla differenza di assorbanza tra 550 nm e 630 nm.

Glucosio (GLU)

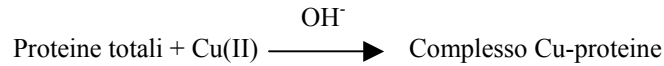
Le prime misurazioni della concentrazione di glucosio furono effettuate con metodi basati sulla riduzione in rame (ad esempio Folin-Wu e Somogyi-Nelson).^{14,15,16} La mancanza di specificità delle tecniche di riduzione del rame ha portato allo sviluppo di procedure quantitative che utilizzano gli enzimi esochinasi e glucosio ossidasi. Il test del glucosio Abaxis è una variante del metodo dell'esochinasi proposto come base del metodo di riferimento per il glucosio.¹⁷ La reazione del glucosio con l'adenosina trifosfato (ATP), catalizzata dall'esochinasi (HK), produce glucosio-6-fosfato (G-6-P) e adenosina difosfato (ADP). La glucosio-6-fosfato deidrogenasi (G-6-PDH) catalizza la reazione di G-6-P in 6-fosfogluconato e la riduzione del nicotinammide adenin dinucleotide (NAD⁺) in NADH.



Proteine totali (TP)

Il metodo delle proteine totali è una modifica della reazione del biureto, nota per la sua precisione, accuratezza e specificità,¹⁸ che è stata originariamente sviluppata da Riegler e successivamente modificata da Weichselbaum, Doumas, et al. La reazione del biureto è un potenziale metodo di riferimento delle proteine totale.^{19, 20, 21}

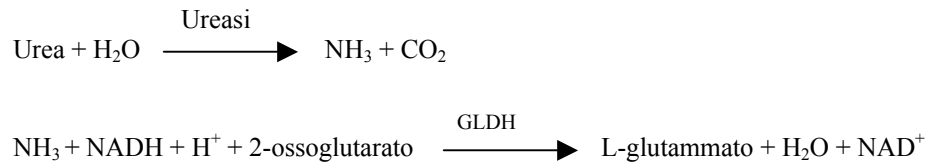
Nella reazione del biureto, la soluzione proteica è trattata con ioni rame [Cu(II)] in un terreno fortemente alcalino. Vengono aggiunti tartrato di sodio e potassio e ioduro di potassio per impedire rispettivamente la precipitazione di idrossido di rame (II) e l'autoriduzione del rame.²⁰ Gli ioni Cu(II) reagiscono con i legami peptidici tra gli atomi di ossigeno del gruppo carbonilico e di azoto del gruppo ammidico formando un complesso colorato Cu-proteine.



La quantità di proteine totali presenti nel campione è direttamente proporzionale all'assorbanza del complesso Cu-proteine. Il test delle proteine totali è una reazione di endpoint e l'assorbanza è data dalla differenza in assorbanza tra 550 nm e 850 nm.

Azoto ureico (BUN)

Il sistema Abaxis impiega una reazione enzimatica accoppiata, in cui l'ureasi idrolizza l'urea in ammoniaca e anidride carbonica.²² Combinando l'ammoniaca con 2-ossoglutarato e nicotinammide adenin dinucleotide (NADH) ridotto, l'enzima glutammato deidrogenasi (GLDH) ossida l'NADH in NAD⁺.



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

4. Principio del test

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

5. Descrizione dei reagenti

Reagenti

Ogni rotore reagente Profilo prep VetScan II contiene microsferi secche di reagente specifico per il test. In ogni rotore reagente è compreso un reagente secco per campione bianco (costituito da tampone, tensioattivi, eccipienti e conservanti) utilizzato per calcolare le concentrazioni di alanina aminotransferasi, fosfatasi alcalina, glucosio e azoto ureico. Il rotore comprende campioni bianchi dedicati per calcolare la concentrazione di creatinina e i livelli di proteine totali. Ciascun rotore reagente contiene anche un diluente composto da tensioattivi e conservanti.

Avvertenze e precauzioni

- Per uso diagnostico veterinario *in vitro*
- Il contenitore del diluente nel rotore reagente si apre automaticamente alla chiusura del cassetto dell'analizzatore. Non è possibile riutilizzare un rotore con contenitore del diluente aperto. Prima di chiudere il cassetto, assicurarsi che il campione o il controllo sia stato inserito nel rotore.
- Le microsferi di reagente possono contenere acidi o sostanze caustiche. Se rispetta le procedure raccomandate, l'operatore non viene a contatto con le microsferi di reagente. In caso di manipolazione delle microsferi (es. pulizia in seguito a caduta e incrinatura di un rotore reagente), evitare ingestione, contatto cutaneo e inalazione.
- Alcune microsferi di reagente contengono sodio azide che può reagire con le tubature di piombo e rame formando azoturi altamente esplosivi. Se si rispettano le procedure raccomandate, i reagenti non vengono a contatto con le tubature in piombo e rame. Tuttavia, qualora i reagenti venissero a contatto con tali tubature, sciacquare con abbondanti quantità d'acqua per evitare l'accumulo di azide.

Istruzioni per la manipolazione del reagente

Allorché prelevati dal frigorifero, i rotori di reagente possono essere utilizzati direttamente, senza essere riscaldati. Aprire il sacchetto sigillato di foglio d'alluminio ed estrarre il rotore, prestando attenzione a non toccare l'anello con il codice a barre situato sulla parte superiore del rotore stesso. Per l'uso, seguire le istruzioni fornite nel manuale d'uso VetScan. Gettare il rotore se non lo si utilizza entro 20 minuti dall'apertura del sacchetto. I rotori in sacchetti aperti non possono essere riposti in frigorifero per essere utilizzati successivamente.

Conservazione

Conservare i rotori di reagente nei sacchetti sigillati a 2-8 °C (36-46 °F). Non esporre i rotori, aperti o ancora sigillati, a luce solare diretta o temperature superiori a 32 °C (90°F). Non lasciare i rotori sigillati nei sacchetti di foglio d'alluminio a temperatura ambiente per oltre 48 ore prima dell'uso. Aprire il sacchetto ed estrarre il rotore soltanto prima dell'uso.

Indicazioni di instabilità o deterioramento del rotore reagente

- Tutti i reagenti contenuti nell'apposito rotore, se conservati nel modo sopra descritto, sono stabili sino alla data di scadenza stampata sul sacchetto del rotore. **Non** utilizzare un rotore dopo la data di scadenza. La data di scadenza è codificata anche nel codice a barre stampato sull'apposito anello. Se i reagenti sono scaduti, sul display dell'analizzatore chimico VetScan viene visualizzato un messaggio di errore.
- In caso di sacchetto strappato o altrimenti danneggiato, l'umidità può penetrare nel disco non utilizzato e alterare il comportamento del reagente. Non utilizzare rotori prelevati da sacchetti danneggiati.

6. Strumento

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

7. Raccolta e preparazione dei campioni

La quantità minima di campione è di ~100 µL di sangue intero eparinizzato, plasma eparinizzato, siero o controllo. La camera del campione su rotore reagente può contenere fino a 120 µL di campione.

- Il campione raccolto in una micropipetta eparinizzata deve essere dispensato nel rotore reagente **subito** dopo la raccolta.
- Per campioni di sangue intero o di plasma, utilizzare solo provette per prelievo sottovuoto con litio eparina (tappo verde). Per campioni di siero, utilizzare provette per prelievo sottovuoto senza additivi (tappo rosso) o provette per separazione del siero (tappo rosso o rosso/nero).
- I campioni di sangue intero prelevati mediante venipuntura devono essere omogenei prima di essere trasferiti nel rotore reagente. Capovolgere delicatamente le provette di prelievo alcune volte prima di trasferire il campione. **Non** agitare la provetta di prelievo in quanto ciò potrebbe provocare emolisi.
- Iniziare il test entro 10 minuti dal trasferimento del campione nel rotore reagente.
- Analizzare i campioni di sangue intero prelevati mediante venipuntura entro 60 minuti dal prelievo; qualora ciò non fosse possibile, separare il campione e trasferirlo in una provetta pulita.²³ Analizzare il campione di siero o plasma separato entro 5 ore dalla centrifugazione. Qualora ciò non fosse possibile, refrigerare il campione in una provetta tappata a 2-8 °C (36-46 °F) per non più di 48 ore. Un campione di plasma o siero può essere conservato a -10 °C (14 °F) per un massimo di 5 settimane in un congelatore privo di ciclo di autoscongelo.
- Le concentrazioni di **glucosio** diminuiscono di circa 5-12 mg/dL in 1 ora in campioni non centrifugati conservati a temperatura ambiente.²⁴
- La refrigerazione di campioni di sangue intero può causare variazioni significative nelle concentrazioni di **glucosio** e **creatinina**.²⁵

Sostanze interferenti conosciute

- L'unico anticoagulante raccomandato per l'uso con l'analizzatore chimico VetScan è la litio eparina. Abaxis ha condotto studi che dimostrano come EDTA, fluoruro, ossalato e qualsiasi anticoagulante contenente ioni ammonio interferiscano con almeno una delle sostanze chimiche contenute nel rotore reagente Profilo prep VetScan II.
- Gli interferenti fisici (emolisi, ittero e lipemia) possono causare variazioni nelle concentrazioni refertate di alcuni analiti. Gli indici del campione sono stampati nella parte inferiore di ogni scheda dei risultati per informare l'operatore dei livelli di agenti interferenti presenti in ciascun campione. L'analizzatore chimico VetScan elimina gli eventuali risultati falsati da un'interferenza > 10% dovuta a emolisi, lipemia e ittero. In tal caso, sulla scheda dei risultati anziché i risultati verrà rispettivamente stampata la dicitura "HEM" (emolisi), "LIP" (lipemia) o "ICT" (ittero).

- Le concentrazioni di **glucosio** sono influenzate dall'intervallo di tempo trascorso dall'ultimo pasto del paziente e dal tipo di campione prelevato dal paziente. Per interpretare in modo corretto i risultati relativi al glucosio, prelevare i campioni da pazienti a digiuno da almeno 12 ore.²⁶
- Quando si analizzano campioni con un indice lipemico 3 +, è possibile osservare interferenze nel test delle proteine totali.²⁷ I campioni con una concentrazione di trigliceridi >400 mg/dL possono presentare un livello aumentato di proteine totali. L'analizzatore chimico VetScan elimina gli eventuali risultati falsati da un'interferenza > 10% dovuta a lipemia. In tal caso, sulla scheda dei risultati anziché il risultato viene stampata la dicitura "LIP" (lipemia).

8. Procedura

Materiali forniti

- Un rotore reagente Profilo prep VetScan II

Materiali necessari ma non forniti

- Analizzatore chimico VetScan

Parametri del test

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

Procedura del test

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

Calibrazione

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

Controllo di qualità

Per verificare l'accuratezza dell'analizzatore chimico VetScan, è possibile analizzare periodicamente i controlli appositi. Abaxis raccomanda di analizzare un controllo a base di siero normalmente in commercio. Analizzare i controlli sul rotore reagente seguendo la stessa procedura adottata per i campioni dei pazienti. Per l'analisi dei controlli, vedere il manuale d'uso VetScan.

9. Risultati

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

10. Limiti della procedura

I limiti generici della procedura sono descritti nel manuale d'uso dei sistemi VetScan.

- I campioni con ematocriti superiori al 60% del volume dei globuli rossi concentrati possono dare luogo a risultati imprecisi. I campioni con ematocriti elevati possono essere refertati come emolizzati. Questi campioni possono essere centrifugati e il plasma quindi rianalizzato in un nuovo rotore reagente.

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

11. Valori attesi

I seguenti intervalli normali sono forniti a titolo puramente indicativo. Gli intervalli di riferimento più attendibili sono quelli stabiliti per la propria popolazione di pazienti. I risultati dei test devono essere interpretati in associazione al quadro clinico del paziente. Per personalizzare range normali specifici sul proprio analizzatore chimico VetScan per la serie "Other" (Altro), consultare il manuale d'uso VetScan alla voce "Menu Key functions" (funzioni dei tasti di menu).

Tabella 1: Intervalli di riferimento

	Cani	Gatti	Equini
ALT	10 – 118 U/L (10 – 118 U/L)	20 – 100 U/L (20 – 100 U/L)	5 – 20 U/L (5 – 20 U/L)
ALP	20 – 150 U/L (20 – 150 U/L)	10 – 90 U/L (10 – 90 U/L)	50 – 170 U/L (50 – 170 U/L)
CRE	0,3 – 1,4 mg/dL (27 – 124 µmol/L)	0,3 – 2,1 mg/dL (27 – 186 µmol/L)	0,6 – 2,2mg/dL (53 – 194 µmol/L)
GLU	60 – 110 mg/dL (3,3 – 6,1 mmol/L)	70 – 150 mg/dL (3,9 – 8,3 mmol/L)	65 – 110 mg/dL (3,6 – 6,1 mmol/L)
TP	5,4 – 8,2 g/dL (54 – 82 g/L)	5,4 – 8,2 g/dL (54 – 82 g/L)	5,7 – 8,0 g/dL (57 – 80 g/L)
BUN	7 – 25 mg/dL (2,5 – 8,9 mmol/L)	10 – 30 mg/dL (3,6 – 10,7 mmol/L)	7 – 25 mg/dL (2,5 – 8,9 mmol/L)

12. Caratteristiche prestazionali (linearità)

La determinazione chimica per ciascun analita è lineare per il range dinamico sottoelencato se il sistema VetScan è utilizzato seguendo la procedura raccomandata (cfr. il manuale d'uso VetScan). La tabella dei range dinamici di seguito fornita, rappresenta lo spettro rilevabile dal sistema VetScan. **Gli intervalli seguenti non rappresentano i range normali.**

Tabella 2: Range dinamici VetScan

Analita	Range dinamici	
	Unità comuni	Unità SI
ALT	5-2000 U/L	5-2000 U/L
ALP	5-2400 U/L	5-2400 U/L
CRE	0,2-20 mg/dL	18-1768µmol/L
GLU	10-700 mg/dL	0,6-39mmol/L
TP	2-14 g/dL	20-140 g/L
BUN	2-180 mg/dL	0,7-64,3 mmol urea/L

Precisione

Studi di precisione sono stati effettuati seguendo le linee guida NCCLS EP5-A²⁷ con modifiche basate su NCCLS EP18-P²⁸ per i dispositivi a utilizzo unitario. I risultati di precisione intra-sessione e totale sono stati determinati testando controlli bi-livello.

Tabella 3: Precisione

Analita	Dimensioni del campione	Intra-sessione	Totale
ALT (U/L)	n = 80		
<u>Controllo 1</u>			
Media		21	21
SD		2,76	2,79
%CV		13,1	13,3
<u>Controllo 2</u>			
Media		52	52
SD		2,70	3,25
%CV		5,2	6,3

Tabella 3: Precisione (cont.)

Analita		Dimensioni del campione	Intra-sessione	Totale
ALP (U/L)		n = 80		
<u>Controllo 1</u>	Media		39	39
	SD		1,81	2,29
	%CV		4,6	5,9
<u>Controllo 2</u>	Media		281	281
	SD		4,08	8,75
	%CV		1,5	3,1
CRE (mg/dL)		n = 80		
<u>Controllo 1</u>	Media		1,1	1,1
	SD		0,14	0,14
	%CV		12,7	12,7
<u>Controllo 2</u>	Media		5,2	5,2
	SD		0,23	0,27
	%CV		4,4	5,2
Glu (mg/dL)		n = 80		
<u>Controllo 1</u>	Media		66	66
	SD		0,76	1,03
	%CV		1,2	1,6
<u>Controllo 2</u>	Media		278	278
	SD		2,47	3,84
	%CV		0,9	1,4
TP (g/dL)		n = 80		
<u>Controllo 1</u>	Media		6,8	6,8
	SD		0,05	0,08
	%CV		0,7	1,2
<u>Controllo 2</u>	Media		4,7	4,7
	SD		0,09	0,09
	%CV		1,9	1,9
BUN (mg/dL)		n = 120		
<u>Controllo 1</u>	Media		19	19
	SD		0,35	0,40
	%CV		1,8	2,1
<u>Controllo 2</u>	Media		65	65
	SD		1,06	1,18
	%CV		1,6	1,8

Correlazione

Studi sul campo sono stati condotti presso una clinica veterinaria universitaria. I campioni di siero sono analizzati con l'analizzatore chimico VetScan e un metodo comparativo. La Tabella 4 riporta i dati di correlazione rappresentativi.

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

		Coefficiente di correlazione	Pendenza	Intercetta	N	Range campione
ALT (U/L)	Cani	1,00	0,95	0	22 – 180	10 – 1549
	Gatti	0,98	0,92	0	21 – 55	27 – 99
	Equini	0,97	0,94	6	7 – 101	11 – 30
ALP (U/L)	Cani	1,00	0,89	-5	22 – 180	15 - 1722
	Gatti	0,97	0,81	1	21 – 55	6 – 54
	Equini	1,00	0,90	-4	7 – 101	119 – 1476
Cre (mg/dL)	Cani	0,99	1,00	0,0	22 – 180	0,6 – 10,6
	Gatti	1,00	1,01	-0,1	21 – 55	0,3– 13,6
	Equini	0,95	1,00	-0,4	7 – 101	0,3 – 6,2
Glu (mg/dL)	Cani	0,96	1,01	-6	22 – 180	28 – 348
	Gatti	1,00	0,97	3	21 – 55	52 – 607
	Equini	0,97	0,94	16	7 – 101	36 – 353
TP (g/dL)	Cani	0,98	1,03	0,1	22 – 180	2,6 – 10,7
	Gatti	0,97	0,96	0,4	21 – 55	4,8 – 8,5
	Equini	0,99	0,97	0,3	7 – 101	3,0 – 9,5
BUN (mg/dL)	Cani	1,00	0,98	-2	22 – 180	4 – 117
	Gatti	1,00	1,07	-5	21 – 55	14 – 165
	Equini	1,00	0,95	-1	7 – 101	3 – 64

13. Bibliografia

1. Wróbleski F and LaDue. Serum glutamic-pyruvic transaminase in cardiac and hepatic disease. Proc Soc Exp Biol Med. 1956;91:569-71.
2. Bergmeyer HU and 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. 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.
4. Ohmori Y. Uber die Phosphomomesterase. Enzymologia 1937;4:217-31.
5. Fujita H. Uber die Mikrobestimung der Blutphosphatase. J Biochem, Japan. 1937;30:69-87.
6. Petitclerc C, et al. Mechanism of action of Mg²⁺ and Zn²⁺ on rat placental alkaline phosphatase. I. Studies on the soluble Zn²⁺ and Mg²⁺ alkaline phosphatase. Can J Biochem 1975;53:1089-1100.
7. Tietz NW, et al. A reference method for measurement of alkaline phosphatase activity in human serum. Clin Chem 1983;29:751-61.
8. Knoll VE, et al. Spezifische Kreatininbetimmung Im Serum. Z Klin Chemi Clin Biochem. 1970;8:582-587.
9. Haeckel R, et al. Simplified Determinations of the "True" Creatinine Concentration In Serum And Urine. J Cklin Chem Clin Biochem. 1980;18:385-394.
10. Moss GA, et al. Kinetic Enzymatic Method For Determining Serum Creatinine. Clin Chem 1975;21:1422-1426.
11. Jaynes PK, et al. An Enzymatic, Reaction-Rate Assay For Serum Creatinine With a Centrifugal Analyzer. Clin Chem 1982;28:114-117.
12. Fossati P, et al. Enzymatic Creatinine Assay: A New Colorimetric Method Based on Hydrogen Peroxide Measurement. Clin Chem 1983;29:1494-1496.
13. Whelton A, et al. Nitrogen Metabolites and Renal Function. In:CA Burtis and ER Ashwood, Eds., Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd Ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company. 1999;1513-1575.
14. Folin O, and Wu H. A System of blood analysis. J Biol Chem 1919; 38: 81-110.
15. Somogyi M. A reagent for the copper-idiometric determination of very small amounts of sugar. J Biol Chem 1937;117: 771-776.
16. Nelson N. A photometric adaption of the Somogyi method for the determination of glucose. J Biol 1944;153: 375-380.
17. Kaplan LA. Glucose. In:LA Kaplan and AJ Pesce, eds., Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation, 2nd ed St. Louis: The C.V. Mosby Company; 1989;850-856.

18. Koller A and Kaplan LA. Total serum protein. In: LA Kaplan and AJ Pesce, eds., *Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation*, 2nd ed. St Louis: The C.V. Mosby Company; 1989:1057-60.
19. Reigler E. Eine kolorimetrische Bestimmungsmethods des Eiweisses. *Z Anal Chem* 1914;53:242-5.
20. Weichselbaum TE. An accurate and rapid method for determination of proteins in small amounts of blood serum and plasma. *Am J Clin Path* 1946;16:40-9.
21. Dumas BT, et al. A candidate reference method for determination of total protein in serum. I. Development and validation. *Clin Chem* 1981;27:1642-50.
22. Sampson, EJ MA Baird, CA Burtis, EM Smith, DL Witte, and DD Bayse. 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.
23. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). *Procedures for Handling and Processing of Blood Specimens; tentative standard*. NCCLS document H18-A2. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
24. Overfield CV, Savory J, and Heintges MG. Glycosis: a re-evaluation of the effect on blood glucose. *Clin Chim Acta* 1972;39:35-40.
25. Rehak NN and Chiang BT. Storage of whole blood: effect of temperature on the measured concentration of analytes in serum. *Clin Chem* 1988;34:2111-14.
26. Melnik J and Potter JL. Variance in capillary and venous glucose levels during glucose tolerance test. *Am J Med Tech* 1982;48:543-5.
27. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). *Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices; approved guideline NCCLS Document EP5-A*. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
28. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). *Quality management for unit-use testing; proposed guideline*. NCCLS Document EP18-P. Wayne, PA: NCCLS, 1999.