

In Vitro Hemolizin Rutin Biyokimyasal Testler Üzerine Etkileri

EFFECTS OF IN VITRO HEMOLYSIS ON ROUTINE BIOCHEMICAL TESTS

Dr.Doğan YÜCEL, Dr.Klara DALVA

Türkiye Yüksek İhtisas Hastanesi Biyokimya Laboratuvarı, ANKARA

ÖZET

Hemolizin rutin biyokimyasal testleri ne ölçüde etkilediği araştırıldı. Türkiye Yüksek İhtisas Hastanesi poliklinik ve klinik hastalarından elde edilen kan örnekleri (n = 60), orta ve ağır hemoliz şeklinde gruplandırılmak üzere mekanik trauma ile hemolize edildi. Böylece hemolizsiz, orta derece hemolizli ve ağır hemolizli olmak üzere üç gruba ayrılan 180 serumda hem serbest hemoglobin ölçümü, hem de şu rutin biyokimyasal analizler yapıldı: Glukoz, total protein, albumin, globulin, ürik asit, alkalen fosfat, laktat dehidrogenaz, aspartat aminotransferaz, alanin aminotransferaz, üre, kreatinin, kolesterol, HDL-kolesterol, trigliserit, bilirubinler, sodyum, potasyum, klorür, kalsiyum, inorganik fosfat, magnezyum, amilaz, lipaz, total-, non-prostatik- ve prostatik-asit fosfat. Bu testlerden yalnızca laktat dehidrogenaz, asit fosfat (total, non-prostatik ve prostatik) ve potasyum hemolizden önemli ölçüde etkilendi. Sonuç olarak, hemolizli örneklerde laktat dehidrogenaz, asit fosfat ve potasyum analizleri yapılmamalıdır.

Anahtar Kelimeler: Hemoliz, Hemoglobin, Etkileşme, Kalite Kontrol

TKlin Araştırma 1991,9:248-253

Geliş Tarihi: 25.9.1990

Kabul Tarihi: 13.10.1990

Yazışma Adresi: Dr.Doğan YÜCEL
Türkiye Yüksek İhtisas Hastanesi,
Biyokimya Laboratuvarı,
ANKARA

SUMMARY

The effects of hemolysis on the routine biochemical tests were studied. The samples (n=60) obtained from the clinics and polyclinics of Türkiye Yüksek İhtisas (T.Y.I) Hospital were hemolyzed in two steps by mechanical trauma in order to give moderate and severe hemolysis groups. The free hemoglobin levels of the samples (n = 180) in these three groups, without hemolysis, moderate hemolysis and severe hemolysis groups, were measured and those routine biochemical analysis were performed: Glucose, total protein, albumin, globulin, uric acid, alkaline phosphatase, lactate dehydrogenase, aspartate aminotransferase, alanin aminotransferase, urea, creatinine, cholesterol, HDL-cholesterol, Triglycerides, bilirubins, sodium, potassium, chloride, calcium, inorganic phosphate, magnesium, amylase, lipase, total-, nonprostatic-, and prostatic acid phosphatase. Among these tests only the lactate dehydrogenase, acid phosphatase (total, nonprostatic and prostatic), and potassium were effected significantly. In conclusion, even if there is only slight hemolysis in the samples, lactate dehydrogenase, acid phosphatase and potassium analysis must be rejected.

Keywords: Hemolysis, Hemoglobin, Interference, Quality Control

Turk J Resc Med Sei 1991,9:248-253

Klinik kimya laboratuvarına gelen kan örneklerinin analizi çeşitli nedenlerle reddedilir, yapılmaz. Bunun başlıca iki nedeni vardır: Lipem ve hemoliz. Hemolize bağlı reddediliş üç nedenden kaynaklanır:

1. Eğer analitin (ölçümü yapılan madde) hücre içi konsantrasyonu serum ya da plazmadakinden yüksekse, hemoliz sonucunda hücreler içindeki bileşenlerin serum ya da plazmaya sızması sonucu bir pozitif hata ortaya çıkar. Örneğin laktat dehidrogenaz ve asit fosfataz hemolizden böyle etkilenir (1).

2. Tersine, eğer hücre içi analit konsantrasyonu serum ya da plazmadakinden düşükse, bu durumda seyreltme (dilüsyon) etkisine bağlı bir negatif hata ortaya çıkabilir. Örneğin, kolesterol esterleri, sodyum ve kalsiyum (2),

3. Eğer analitin ölçümünde kullanılan yöntem bir spektrofotometrik tekniğe dayanıyorsa ve bu tekniğin uygulanışında elde edilen renkli son ürünün özellikleri hemoglobinin (Hb) spektral özellikleriyle çakışıyorsa, ya da ona benziyorsa, bir pozitif hata görülebilir (3). Öte yandan, Hb, peroksidatif etkisiyle, peroksidaz reaksiyonlarına dayanan enzimatik analizlerde hataya neden olabilir (4,5). Hemolizli örneklerle klinik kimya laboratuvarında sık karşılaşılır. Kan yabancı yüzeylerle temas etliğinde, özellikle ekstrakorporeal dolaşım ve otolog transfüzyon uygulanan açık kalp cerrahisinde hemoliz ortaya çıkabilir (6). Ancak, klinik laboratuvarında en sık karşılaşılan hemoliz nedeni, in vitro olarak, kan örneklerinin yanlış alınışı ya da santrifügasyon ve ayırma işlemleri sırasında örneklerle gerektiği şekilde özen gösterilmemesidir.

Çoğu laboratuvar hemolizli örneklerle çalışmayı, hemolizin analiti ne derece etkilediğine bakmaksızın, reddeder. Oysa kimi analitler, ağır hemoliz durumlarında bile önemli derecede bir hata olmadan ölçülebilir. Dolayısıyla bu konuda daha rasyonel bir yaklaşım gösterilmelidir. Bu da laboratuvarlarda kullanılan analitik prosedürlerin hemolizden ne ölçüde etkilendiğini bilmekten geçer. Biz bu amaçla laboratuvarında rutin olarak yapılan testler üzerinde hemolizin ne ölçüde etkili olduğunu araştırdık.

MATERYAL VE METOD

Bu çalışmada, Türkiye Yüksek İhtisas Hastanesi klinik ve polikliniklerinden, geniş iğnelerle (19 G), normal cam tüplere yaklaşık 15'er mL kan alındı. Laboratuvara gelen bu kanlar, 1/2 saat sonra santrifüj edilerek, üçte biri hemolizsiz serum halinde ayrıldı. Daha sonra, geride kalan kanlar,

mekanik trauma yoluyla (metal çubukla karıştırarak), laboratuvarında orta (+) ve ağır (+ +) hemoliz şeklinde değerlendirilmek üzere hemolize edildi, hemolizli serumlar ayrıldı. Böylece hemolizsiz, orta derecede hemolizli ve ağır hemolizli üç grup serum elde edildi. Bu serumlarda (60 hastadan elde edilen 180 serumda) hemoliz işleminin yapıldığı günlerde, eş zamanlı olarak rutin biyokimyasal testler yapıldı. Laboratuvarında en sık karşılaşılan hemoliz nedeni mekanik trauma olduğundan, hemolizli örneklerin hazırlanışında bu yola gidildi.

Bu çalışmada analit değerleri, referans aralığı dışında olan örneklerin de belirli bir oran oluşturması amacıyla, T.Y.İ, Hastanesi Hemodiyaliz, Koroner Bakım ve Devamlı Bakım Ünitelerinden de örnekler alındı. Böylece analit değerlerinin en az yüzde 5'inin normal sınırlar dışında olmasına dikkat edildi (7).

Bütün serumlarda hemoglobin konsantrasyonunun hemoliz düzeyini yansıtacağı düşüncesiyle (1), serbest Hb düzeyi de ölçüldü. Bu serumlarda yapılan rutin biyokimyasal testler, prensipleri, kullanılan cihazlar ve referanslar Tablo 1'de özetlenmiştir.

BULGULAR

Hemolizsiz (Grup I), orta derecede hemolizli (Grup II) ve ağır hemolizli (Grup III) olmak üzere ayrılan bu serumların ortalama Hb düzeyleri sırasıyla $X_1 = 4.8$ mg/dL, $X_2 = 43.5$ mg/dL ve $X_3 = 113.6$ mg/dL idi. Standart sapma değerleri ise $S_1 = 3.2$ mg/dL, $S_2 = 13.9$ mg/dL, $S_3 = 27.4$ mg/dL olarak bulundu. Bu üç grup arasındaki Hb konsantrasyonu farkı istatistiksel olarak çok anlamlıydı ($p < 0.001$). Bu üç gruptan I ile II ve III. gruplar arasında her bir teste hemolize bağlı görülen değişikliğin önemini kontrol etmek için Student t-testi uygulandı. Sonuçlar Tablo 2'de görülüyor. Yapılan testlerden yalnızca LD, potasyum, total, non-prostatik ve prostatik (tartarat labil) ACP'da gruplar arasında hemolize bağlı görülen fark anlamlı bulundu.

Bu üç grup birleştirilerek tek bir grup haline getirildi. Yüzseksen örnekten oluşan bu grupta, elde edilen analit değerleri ile Hb konsantrasyonu arasındaki ilişki (korelasyon) araştırıldı. Sonuçlar Tablo 3'de görülüyor.

Elde edilen bulgular hemolizin rutin biyokimyasal testlere sanıldığı kadar önemli etkide bulunmadığını gösteriyor. Hemoliz yalnızca LD,

Tablo 1. Çalışılan Testler, Prensipleri, Kullanılan Cihazlar ve Kaynaklar

No.	Test	Prensip	Cihaz	Kaynak
1	Glukoz	Glukoz oksidaz/Peroksidaz reaksiyonu, kolorimetrik. son nokta	ENCORE	8
2	Total protein	Biuret reaksiyonu, kolorimetrik, son nokta	ENCORE	9
3	Albumin	Bromercsolgreen ile bağlanma, kolorimetrik. son nokta	ENCORE	10
4	Ürikasit	Ürikaz/Peroksidaz reaksiyonu, kolorimetrik. son nokta	ENCORE	11
5	Alkalen fosfataz	Substrat:p-nitro fenil fosfat. kolorimetrik-kinetik	ENCORE	12
6	Laktat dehidrogenaz	Pirüvat → Laktat reaksiyonu. UV-kinetik	ENCORE	13
7	Aspartat aminotransferaz	UV-kinetik	PACOS	14
8	Alanin aminotransferaz	UV-kinetik	DACOS	15
9	Üre	Üreaz/Glutamat dehidrogenaz, UV-son nokta	DACOS	16
10	Kreatinin	Alkali pikrat reaksiyonu, kolorimetrik-kinetik	DACOS	17
11	Kolesterol	Kolesterol oksidaz/Peroksidaz. reaksiyonu, kolorimetrik. son nokta	DACOS	18
12	HDL-Kolesterol	Mg-Fosfat ile çöklürüldü, enzimlik reaksiyon kolorimetrik	DACOS	19
13	Trigliserit	Enzimlik reaksiyonlar zinciri, kolorimetrik. son nokta	DACOS	20
14	Bilirubinler	Van den Bergh reaksiyonu, kolorimetrik, son nokta	DACOS	21
15	Sodyum ve Potasyum	İyon-selektif elektrotlarla	DACOS	22
16	Klorür	Merkürimetrik titrasyonla. manual	—	23
17	Kalsiyum	2-ercsolphthalein ile, kolorimetrik, son nokta, manual	VITATRONSPS	24
18	İnorganik fosfat	Deproteinizasyon sonrası sülfomolibdikasitle, kolorimetrik. son nokta	VITA IRON SPS	25
19	Magnezyum	Titan yellow ile. kolorimetrik. son nokta. manual	VITATRONSPS	26
20	Amilaz	Amiloklastik yöntemle, kolorimetrik. fixed-time, manual	VITATRON SPS	27
21	Lipaz	Substrat: Zeytinyağı, tübidimetrik, kinetik	VITATRONSPS	28
22	Asit fosfat ve tartarat labil asit fosfataz	Substrat: p-nitrofenil fosfat. kolorimetrik-kinetik. fixed-time, manual	VITA IRON SPS	29
23	Serbest hemoglobin	Spektrofotometrik yöntem, son nokta, manual	VITATRONSPS	30

ACP ve potasyumda önemli etki gösterdi. Ancak bu etki çok büyük bir lineerle ortaya koymadı.

Glukozda istatistiksel olarak anlamlı olmasa da hemolize bağlı belirgin bir düşüklük söz konusu. Bu düşüklük peroksidaz reaksiyonlarına dayanan analizlerde Hb'in hidrojen peroksiti erken parçalayarak, kromojenin renklenmesini engellemesinden kaynaklanabilir (4,5). Ayrıca glukozun eritrositler içindeki konsantrasyonu plazmadakinden düşüktür (1). Glukozdaki düşüklüğün bir nedeni de, eritrositler içindeki glikolitik enzimlerin glukozu parçalaması olabilir.

Buna karşılık, yine peroksidaz reaksiyonuna dayanan kolesterol, HDL-kolesterol ve trigliserit testlerinde hemolize bağlı bir düşüklük bulunmadı.

Tersine, kolesterolde birinci ve üçüncü gruplar arasındaki hemolize bağlı fark istatistiksel olarak anlamlıdır. Kolesterolde görülen bu artış, ağır hemoliz grubunda Hb'in ölçüm yapılan dalga boyunda yaptığı absorbanstır. Hemolizden gelen bu hata, uygun bir örnek köru kullanılarak giderilebilir.

Tüm bilirubin fraksiyonlarında hemolizle ortaya çıkan düşüklük yine Hb'in nitroz asitle methemoglobine çevrilmesi ama aynı olayın örnek köru olmamasından ileri gelir (31).

Sodyum, kalsiyum ve klorürün eritrosit içi konsantrasyonları plazmadakinden düşük olmakla birlikte, bizim elde ettiğimiz hemoliz düzeylerinde, bu testlerde hemolize bağlı bir fark görülmemesi, dilüsyon etkisinin pek önemli olmadığını ortaya

Tablo 2. Hemolizsiz (Grup I), Orta Derecede Hemolizli (Grup II) ve Ağır Hemolizli (Grup III) Grupların İstatistiksel Değerlendirilmesi

No.	Test	Birim	Grup I Grup II		İstatistiksel Önem	Grup I Grup III		İstatistiksel Önem
			XI	X2		x1	X3	
1	GEL'	mg/dl.	86	81	P>0.05	86	78	P>0.05
2	T.PRO.	g/d E	6.7	6.7	P > 0.05	6.7	6.7	P>0.05
3	AEB	g/dL	3.5	3.5	P>0.05	3.5	3.5	P > 0.05
4	GLO	g/di.	3.2	3.2	P>0.05	3.2	3.2	P>0.05
5	ÜRİK A.	mg/dL	5.6	5.6	P>0.05	5.6	5.6	P>0.05
6	ALP	U/E	121	120	P>0.05	121	118	P>0.05
7	LD(P)	U/L	209	341	P<0,001	209	522	P< 0.001
8	AST	U/L	23	24	P>0.05	23	30	P>0.05
9	ALT	U/L	34	34	P>0.05	34	36	P>0.05
10	ÜRE	m g/d l.	30	30	P>0.05	30	31	P>0.05
11	KRE	mg/dl.	3.3	3.3	P>0.05	3.3	3.3	P > 0.05
12	CIHOL	mg/dl.	179	188	P>0.05	179	205	P<0.05
13	HIDE-aiOl.	mg/dl.	31	32	P>0.05	31	33	P>0.05
14	İRİ	mg/dL	127	127	P>0.05	127	132	P>0.05
15	T.BİL	mg/dL	12	11	P>0.04	12	11	P>0.05
16	D.BİL	mg/dl.	0.4	0.3	P>0.05	0.4	0.3	P>0.05
17	İ.BİL.	mg/dL	0.8	0.8	P>0.05	0.8	0.8	P>0.05
18	Na ⁺	mmol/L	144	144	P>0.05	144	144	P>0.05
19	K ⁺	mmol/L	4.5	4.8	P<0.05	4.5	5.2	P< 0.001
20	cr	mmol/L	104	105	P>0.05	104	105	P > 0.05
21	< V	mmol/L	2.5	2.5	P>0.05	2.5	2.5	P > 0.05
22	İ.P'OS.	mg/dl.	3.7	3.7	P>0.05	3.7	3.8	P>0.05
23	Mg ⁺	mmol/L	13	13	P>0.05	13	13	P > 0.05
24	AMS	U/L	2168	2077	P>0.05	2168	2227	P>0.05
25	EPS	U/L	120	115	P>0.05	120	100	P>0.05
26	T.ACP	U/L	7.7	10.7	P < 0.005	7.7	17.5	P< 0.001
27	NP-ACP	U/L	4.5	6.5	P < 0.05	4.5	9.8	P< 0.001
28	P-ACP	U/L	3.2	4.2	P < 0.05	3.2	7.7	P< 0.005
29	I lh	mg/dl.	4.8	43.5	P< 0.001	4.8	13.6	P< 0.001

koyuyor. Klorürde Hb'in litre.yon sırasında son noktayı gizlemesine bağlı pozitif hatalar dilüsyon etkisini gizlemiş olabilir (32).

Eritrosit içi konsantrasyonları plazmadakin-den yüksek olan magnezyum, total protein ve albumin gibi analitler de beklenenin tersine hemolizden etkilenmedi. İnorganik fosfatta görülen küçük artışın nedeni ise eritrositler içindeki organik fosfat esterlerinin fosfatazlarca parçalanmasıdır (33).

Hücre içi konsantrasyonları plazmaya yakın olan üre ve kreatinin testlerinde beklendiği gibi, gruplar arasında önemli bir fark bulunmadı. Literatürde ürenin hemolizden etkilenebileceği belirtilmekteyse de (34), bu bilgi bizim kullandığımızenzimalik metod için geçerli değildir.

Enzimlerden amilaz (AMS) ve alkalin fonstatazda (ALP) hiçbir fark bulunmaması doğaldır. Lipazda görülen hafif düşüklüğün nedeni ise, Hb'in kontrol absorbanasını yükseltmesidir. Literatürde, eritrosit içi konsantrasyonu plazmadakinin 40 katı olan AST'de ve 6.7 katı olan ALT'de (aspartat aminotransferaz ve alanin aminotransferaz) önemli artışlarla karşılaşılabileceği belirtilmekte ise de (6,35), bizim elde ettiğimiz, hemoliz düzeylerinde, bu testler çalışılabilir. Hemolizden en fazla etkilenen enzimler, eritrosit içi konsantrasyonu plazmadakinin 160 katı olan LD ve 67 katı olan ACP'dir. Dolayısıyla bu enzimlerde hemolize bağlı artış görmek doğaldır. Bu artışlar Hb konsantrasyonu ile nispeten doğru orantılıdır. Biz, literatürdeki bilgilerin tersine tartaralabil ACP'da

Tablo 3. Elde Edilen Analit Değeri ile Serbest Hemoglobin konsantrasyonu Arasındaki Korelasyon

Test	Korelasyon Katsayısı (r)
GLU	-0.215
T.PRO.	0.0
ALB	0.0
GEO	0.0
ÜRİK A.	-0.327
ALP	0.0
LD	0.770
AST	0.360
ALT	0.100
ÜRE	0.0
KRE	0.0
CHOL	0.170
HDL-CHOL	0.0
TRİ	0.0
T.BİE.	0.0
D.BİL.	0.0
İ.BİL.	0.0
Na ⁺	0.0
K ⁺	0.400
CT	0.0
Ca ⁺⁺	0.0
İ.EOS.	0.0
Mg ⁺⁺	0.0
AMS	0.0
LPS	-0.1
T.ACP	0.650
NP-ACP	0.547
P-ACP	0.516

da hemolize bağlı artış gözledik. Bu artış, tartaratın enzim aktivitesindeki artışı inhibe etmesinden ileri gelebilir. Ayrıca, Hb'in ortam pH'sını değiştirmesi de buna katkıda bulunabilir (5). Ek olarak, tartarat labil ACP'nin kaynağı yalnızca prostat bezi değildir (36).

Potasyumun eritrositler içindeki konsantrasyonu, plazmadakinin 23 katıdır. Çalışmamızda potasyum hemolizden hafif (orta) hemoliz grubunda bile etkilenmiştir. Dolayısıyla, hemolizli örneklerde potasyum çalışması yapmak doğrudur.

Sonuç olarak, LD, ACP ve potasyum dışında rutin biyokimyasal testler hemolizden önemli ölçüde etkilenmez. Bunda elbette kullanılan yöntemler ve hatta cihazların da rolü önemlidir. Ayrıca, hemolizden gelebilecek hatalar, uygun

örnek körleri ve espektrofotometrik düzeltmeler, örneğin Ailen Düzeltmesi, kullanılarak giderilebilir. Otomatik teknikler bu sorunları büyük ölçüde çözümlenmişlerdir. Bu nedenle bizim kullandığımız yöntemlerde hemolizden etkilenme önemsiz kalmış olabilir. Ancak eritrosit içi konsantrasyonları plazmadakinin çok üstünde olan anah'ların ölçümünde (LD, ACP, potasyum) hemolizden kesinlikle kaçınılmalı ve hemolizsiz örneklerle çalışarak sonuç verilmelidir.

KAYNAKLAR

1. Caraway WT: Chemical and diagnostic specificity of laboratory tests. *Am J Clin Pathol* 1962, 37:445-464.
2. Frank J.I, Bermes EW, Bichel M.I and Watkins B.P: Effect of in vitro hemolysis on chemical values for serum, *Clin Chem* 1978,24:1966-70.
3. Brydon W.G and Roberts L.B: The effect of hemolysis on the determination of plasma constituents. *Clin Chim Acta* 1972,41:435-8.
4. Perlstein M.I, Thibert R.T and Zak B: Bilirubin and hemoglobin interference in direct colorimetric cholesterol reactions using enzyme reagents. *Microchem J* 1977, 22:403-419.
5. Perlstein M.E, Thibert R.J, Watkins R and Zak B: Spectrophotometry study of bilirubin and hemoglobin interactions in several hydrogen peroxide generating procedures. *Microchem J* 1978, 23:13-27.
6. Kingsley D.P.I., Cook J and Vartan A.E: The effects of hemolysis on some plasma and serum enzymes in man. *Clin Chim Acta* 1965, 12:489-492.
7. Westgard J.I and Lust M.R: Use and interpretation of common statistical tests in method-comparison studies. *Clin Chem* 1973, 19:49-57.
8. Trinder P: Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen acceptor. *Ann Clin Biochem* 1969,6:24-7.
9. Kingsley G.R: The direct biuret method for the determination of serum proteins as applied to photoelectric and visual colorimetry. *J Lab Clin Med* 1942, 27:840-5.
10. Webster D: The immediate reaction between bromocresolgreen and serum as a measure of albumin content. *Clin Chem* 1977, 23:663-5.
11. Fossali P, Principe I. and Berli G: Use of 3,5-dichloro-2-hydroxybenzenesulphonic acid/4-aminophenazone chromogenic system in direct enzymic assay of uric acid in serum and urine. *Clin Chem* 1980, 26:227-231.
12. Bowers G.N and Mc Comb R.B: A continuous spectrophotometry method for measuring activity of serum alkaline phosphatase. *Clin Chem* 1966,12:70:89.

13. Vassault A, Wahlefeld AW and Denekc U: lactate dehydrogenase. In: Bergmeyer HU, Bergmeyer J and Grassl M, eds: Methods of Enzymatic Analysis: Weinheim: Verlag-Chemie, 1983, 118-138.
14. Rej R and Horder M: Aspartate aminotransferase. In: Bergmeyer HU, Bergmeyer J and Grassl M, eds. Methods of Enzymatic Analysis: Weinheim: Verlag-Chemie, 1983, 416-433.
15. Horder M and Rej R: Alanine aminotransferase. In: Bergmeyer HU, Bergmeyer J and Grassl M, eds. Methods of Enzymatic Analysis: Weinheim: Verlag-Chemie, 1983: 444-456.
16. Sampson EJ, Baird MA, Burtis CA, et al: A coupled-enzyme equilibrium method for measuring urea in serum: Optimization and evaluation of the AACC Study Group on urea candidate method. Clin Chem 1980, 26:816-826.
17. Lustgarten JA and Wenk RE: Simple, rapid kinetic method for serum creatinine measurement. Clin Chem 1972, 18:1419-22.
18. Richmond W: Preparation and properties of a cholesterol oxidase from Nocardia sp. and its application to the enzymatic assay of total cholesterol in serum. Clin Chem 1973,19:1350-6.
19. Ixjpes-Virella ME, Stone P, Ellis S and Colwell JA: Cholesterol determination in high-density lipoproteins separated by three different methods. Clin Chem 1977, 23:8824.
20. Mc Gowan MW, Artiss JD, Slandbergh DR and Xak B: A peroxidase-coupled method for the colorimetric determination of serum triglycerides. Clin Chem 1983, 20:538-542.
21. Perry BW, Doumas BT, Bayse DD, et al: A candidate reference method for determination of bilirubin in serum. Test for transferability. Clin Chem 1983,29:297-301.
22. Fogh-Anderson N, Wimberley PD, Thode J, et al: Determination of sodium and potassium with ion-selective electrodes. Clin Chem 1984, 30:433-6.
23. Schales O and Schales SS: A simple and accurate method for the determination of chloride in biological fluid. J Biol Chem 1941,140:879-884.
24. Ix>rcntz K: Improved determination of serum calcium with 2-cresolphthalein complexone. Clin Chim Acta 1982, 126:327-334.
25. Dryer RE and Routh II: Determination of serum inorganic phosphorus. Stand Methods Clin Chim 1963,4:191-5.
26. Basinski DA and Gilleland JE: Magnesium (titan yellow). Stand Methods Clin Chem 1965,5:137-142.
27. Richterich R. ed: Clinical Chemistry Theory and Practice: New York: Academic Press, 1969, 406-8.
28. Tietz NW, Shucy DF and Astles JR: Turbidimetric measurement of lipase activity-problems and some solutions. Clin Chem 1987; 33:1624-9.
29. Richterich R. cd. Clinical Chemistry Theory and Practice: New York: Academic Press, 1969,462-7.
30. Vanzclti G and Valante D: A sensitive method for the determination of hemoglobin in plasma. Clin Chim Acta 1965, 11:442-6.
31. Mc Gann CJ and Carter RE: The effect of hemolysis on the van den Bergh reaction for serum bilirubin. J Padiatrics 1960,57:199-202.
32. Tietz NW, Pruden EL and Siggaard-Andersen O: Electrolytes. In: Tietz NW, ed. Textbook of Clinical Chemistry: Philadelphia: WB Saunders 1986:1172-91.
33. Ixtenson .III: Nonanalytical sources of variation in clinical chemistry results. In: Sonnenwirth AC and Jarct L, eds. Gradwohl's Clinical laboratory Methods and Diagnosis: St Louis: CV Mosby, 1980:149-192.
34. Shuh B, Cheng C-S and Rahill WU: Effect of hemolysis on values obtained for urea nitrogen in plasma. Clin Chem 1973, 19:1226.
35. Laessig RH, Ilassemcr DJ, Paskcy TA and Schwartz Tii: The effects of 0.1 and 1.0 percent erythrocytes and hemolysis on serum chemistry values. Am J Clin Pathol 1976, 66:639-644.
36. Li C-Y, Chuda RA and lam WKW: Acid phosphatase in human phasma. J Ub Clin Med 1973, 82:446-460.