

Fluitest® GOT AST

ASPARTATE AMINOTRANSFERASE



BioLyzer® Order information:

Catalog No.	BioLyzer	Contents		
B7001	200 / 600	R1	6 x	47 ml
		R2	6 x	11 ml
B7033	300 / 600*	R1	6 x	57 ml
		R2	6 x	14 ml

*only for instruments with a reagent tray for 20 / 70ml bottles

Fluitest GOT AST without pyridoxal phosphate activation

Intended use:

In vitro test for the quantitative determination of aspartate amino-transferase (AST) in human serum and plasma.

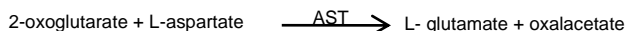
Summary:

Aspartate aminotransferase (glutamate-oxaloacetate-transaminase) belongs to the transaminases, which catalyze the interconversion of amino acids and α -ketoacids by transfer of amino groups. Aspartate aminotransferase is commonly found in human tissue. Although heart muscle is found to have the most activity of the enzyme, significant activity has also been seen in the brain, liver, gastric mucosa, adipose tissue, skeletal muscle, and kidneys. AST is present in both the cytoplasm and mitochondria of cells. In cases involving mild tissue injury, the predominant form of AST is that from the cytoplasm, with a smaller amount coming from the mitochondria. Severe tissue damage results in more of the mitochondrial enzyme being released. Elevated levels of the transaminases can signal myocardial infarction, hepatic disease, muscular dystrophy, and organ damage. In 1955, Karmen et al described the first kinetic determination of AST activity in serum. The International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) recommended in 1977 and 1980 standardized procedures for AST determination, including optimization of substrate concentrations, employment of TRIS* buffers, preincubation of combined buffer and serum to allow side reactions with NADH to occur, substrate start, and optional pyridoxal phosphate activation. In 2002 the IFCC confirmed their recommendation and extended it to 37°C. This method is derived from the IFCC reference method.

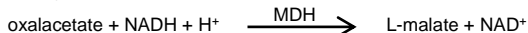
*TRIS = Tris(hydroxymethyl)-aminomethane

Test principle:

UV test according to a standardized method:



AST is the enzyme which catalyzes this equilibrium reaction. The oxalacetate increase is measured in a subsequent indicator reaction which is catalyzed by malate dehydrogenase.



In the second reaction, NADH is oxidized to NAD. The rate of decrease in NADH (Measured photometrically) is directly proportional to the rate of formation of oxalacetate, and thus the AST activity.

Reagent Concentration:

R1:	
Tris buffer pH 7.8	100 mmol/l
L-Aspartate	200 mmol/l
LDH	800 U/l
MDH	600 U/l
R2:	
NADH ₂	0.18 mmol/l
2-Oxoglutarate	12 mmol/l

Preparation and stability:

Unopened kit components: Up to the expiration date at +2°C to +8°C

R1: Ready for use.
R2: Ready for use.

Onboard stability: R1 60 days
R2 60 days

Specimen:

Collect serum using standard sampling tubes.

Heparin or EDTA plasma.

Stability: 24 hours at +20°C to +25°C
7 days at +2°C to +8°C

Separate serum/plasma from clot/cells within 8 hours at room temperature or 48 hours at +2°C to +8°C.

Centrifuge samples containing precipitate before performing the assay.

Limitations - interference:

Criterion: Recovery within $\pm 10\%$ of initial value.

Icterus: No significant interference up to an index I of 70 (approximate conjugated and unconjugated bilirubin: 70 mg/dl)

Hemolysis: No significant interference up to an index H of 425 (approximate haemoglobin concentration: 425 mg/dl).

Lipemia (Intralipid): No significant interference up to an index L of 425 (approximate triglycerides concentration: 850 mg/dl). There is poor correlation between turbidity and triglycerides concentration.

Blood samples should only be drawn prior to the administration of Sulfasalazine and Sulfapyridine. Physiological plasma concentrations of sulfasalazine or sulfapyridine can lead to incorrect results.

The effect of drugs or their metabolic products on the test is not known in all cases. In case of doubt it is recommended to repeat the test after the medication has been discontinued. However, the medication may only be discontinued according to instructions of the attending physician.

Notes:

For in vitro diagnostic use.



Warning! R1 contains hazardous components.

The material safety data sheet contains further safety-related information. It is available for download from our homepage <http://www.analyticon-diagnostics.com>. Exercise the normal precautions required for handling all laboratory reagents.

Testing procedure:

Materials provided

• Working solutions as described above

Additional materials required

• Calibrators and controls as indicated below

• 0.9% NaCl

Measuring /reportable range:

11 - 400 U/l or 0.18 - 6.67 μ kat/l.

Determine samples having higher activities via the rerun function using 0.9% NaCl solution as diluents.

Expected values:

According to the IFCC method.

	U/l	μ kat/l
Men	<50	< 0.85
Women	< 35	< 0.60

Each laboratory should investigate the transferability of the expected values to its own patient population and if necessary determine its own reference range. For diagnostic purposes, the AST results should always be assessed in conjunction with the patients medical history, clinical examination and other findings.

Analytical sensitivity (lower detection limit):

Detection limit: 4.5 U/l or 0.075 μ kat/l

The lower detection limit represents the lowest measurable AST concentration that can be distinguished from zero.

Imprecision:

Reproducibility was determined using controls in an internal protocol between day (n = 20). The following results were obtained:

Run to run			
Sample	Mean (U/l)	SD (U/l)	CV %
sample 1	48.16	1.817	3.8
sample 2	151.22	4.923	3.3
sample 3	139.82	6.827	4.9

Reproducibility was determined using controls within protocol between day (n = 20). The following results were obtained:

Within run			
Sample	Mean (U/l)	SD (U/l)	CV %
sample 1	47.27	1.047	2.2
sample 2	146.91	1.568	1.1
sample 3	101.93	1.204	1.2

Method comparison:

A comparison of the Analyticon Fluitest® AST (y) with a commercial obtainable assay (x) gave the following result with 165 samples:

$y = 0.943x - 0.355$; $r = 0.998$

Quality Control:

Human Control Serum

Contronorm® Plus	5 x 5 ml	#1205
	20 x 5 ml	#1220
ControPath® Plus	5 x 5 ml	#1305
	20 x 5 ml	#1320

The control intervals and limits must be adapted to the individual laboratory and country-specific requirements. Values obtained should fall within established limits. Each laboratory should establish corrective measures to be taken if values fall outside the limits.

Fluitest® GOT AST

ASPARTATE AMINOTRANSFERASE



Calibration:

Calibration Type: Linear

S1: 0.9% NaCl

S2: Bio Cal® E 10 x 3 ml #1430

Calibration frequency:

Two point calibration is recommended

- after reagent lot change
- as required following quality control procedures

Disposal:

Please note the legal regulations.

Literature:

1. Bergmeyer HU, Herder M, Rej R. Approved recommendation (1985) on IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 2. IFCC Method for aspartate aminotransferase. J Clin Chem Clin Biochem 1986;24:49.
2. Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1986;32:470-474.
3. Greiling H, Gressner AM (Hrsg.). Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie, 3. Auflage. Stuttgart/New York: Schattauer Verlag, 1995
4. Karmen A et al. J Clin Invest 1955;24:126.
5. Schmidt FW. Ref Med Ges, Marburg/Lahn, December 1959.
6. Thefeld W et al. Dtsch med Wschr 1974;99:343.
7. Tietz NW (Hrsg.). Clinical Guide to Laboratory Tests, 3. Auflage. Philadelphia, PA: WB Saunders, 1995:76-77.
8. Wallnöfer H, Schmidt E, Schmidt FW (Hrsg.). Synopsis der Leberkrankheiten. Stuttgart: Georg Thieme Verlag, 1974.
9. Thomas L, Klein G. Neue vorläufige Normalbereiche für neun Serumenzyme. Deutsches Ärzteblatt 2006;103;Heft 7.
10. Schumann G et al. IFCC Primary Reference Procedures for the Measurement of Catalytic Activity Concentrations of Enzymes at 37°C – Part 5. Reference Procedure for the Measurement of Catalytic Concentrations of Aspartate Aminotransferase. Clin Chem Lab Med 2002;40(7):725–733.
11. Thefeld W, Hoffmeister H, Busch, E-W, Koller PU, Vollmar J. Referenzwerte für die Bestimmungen der Transaminasen GOT und GPT sowie der alkalischen Phosphatase im Serum mit optimierten Standardmethoden. Dtsch Med Wschr 1974;99:343-351.
12. Klein G, Lehmann P, Michel E, Regenauer H. Vergleich der IFCC-Methoden für ALAT, ASAT und GGT bei 37°C mit den eingeführten Standardmethoden bei 25°C und 37°C. Lab Med 1994;18:403-404.

Text passages with grey background were changed in the latest revision of this package insert.



Fluitest® GOT AST

ASPARTAT AMINOTRANSFERASE



Bioalyzer® Bestellinformation:

Katalog-Nr.	Bioalyzer	Inhalt
B7001	200 / 600	R1 6 x 47 ml
		R2 6 x 11 ml
B7033	300 / 600*	R1 6 x 57 ml
		R2 6 x 14 ml

*nur für Instrumente mit Reagenzteller für 20 / 70ml Flaschen

Fluitest GOT AST ohne Pyridoxalphosphataktivierung

Anwendungszweck:

In vitro Test zur quantitativen Bestimmung der Aspartat-Aminotransferase (AST) in Humanserum und -plasma.

Zusammenfassung:

Die Aspartat-Aminotransferase (Glutamat-Oxalacetat-Transaminase) gehört zur Gruppe der Transaminasen, die durch den Transfer von Aminogruppen die Umwandlung von Aminosäuren zu den entsprechenden α -Ketosäuren und umgekehrt katalysieren. Aspartat-Aminotransferase ist in Geweben des Körpers weit verbreitet. Obwohl hohe Konzentrationen im Myokard vorliegen, gibt es signifikante Aktivitäten im Gehirn, in der Leber, im Gastrointestinalsystem, im Fettgewebe, im Skelettmuskel und in den Nieren. AST liegt sowohl im Zytoplasma wie in den Mitochondrien der Zellen vor. Bei schwachen Zellschädigungen wird der vorwiegende Anteil der AST aus dem Zytoplasma und ein kleiner Teil aus den Mitochondrien freigesetzt. Schwere Schäden setzen mehr mitochondrial gebundene Enzyme frei. Erhöhte Transaminasenspiegel können Myokardinfarkt, Hepatopathien, Muskeldystrophie und Organschädigungen anzeigen. 1955 wurde von Karmen et al die erste kinetische Bestimmung der AST im Serum beschrieben. Die International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) empfahl 1977 und 1980 standardisierte Methoden zur Bestimmung der AST mit optimierter Substratkonzentration, Verwendung von TRIS*-Puffer, gleichzeitiger Vorinkubation von Serum und Puffer, um ablaufende Nebenreaktionen mit NADH zu vermeiden, Substratstart und Pyridoxalphosphataktivierung. 2002 bestätigte die IFCC ihre Empfehlung und erweiterte sie auf 37°C. Die vorliegende Bestimmung ist eine von der Referenzmethode nach IFCC abgeleitete Methode.

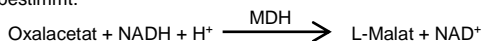
* TRIS = Tris(hydroxymethyl)-aminomethan

Testprinzip:

UV-Test nach Empfehlungen der IFCC (modifiziert):



Das Enzym AST katalysiert diese Gleichgewichtsreaktion. Die Oxalacetatzunahme wird in der gekoppelten, durch Malat-Dehydrogenase katalysierten Indikatorreaktion bestimmt.



Dabei wird NADH zu NAD oxidiert. Die Geschwindigkeit der photo-metrisch gemessenen NADH- Abnahme ist direkt proportional der Bildungsgeschwindigkeit von Oxalacetat und somit der AST Aktivität.

Konzentration der gebrauchsfertigen Lösung:

R1:	
Tris Puffer pH 7.8	100 mmol/l
L-Aspartat	200 mmol/l
LDH	800 U/l
MDH	600 U/l
R2:	
NADH ₂	0.18 mmol/l
2-Oxoglutarat	12 mmol/l

Herstellung und Haltbarkeit:

Ungeöffnete Packungsbestandteile sind bei +2°C - +8°C bis zum angegebenen Verfallsdatum haltbar.

R1: Inhalt ist gebrauchsfertig

R2: Inhalt ist gebrauchsfertig

On board Stabilität: R1 60 Tage
R2 60 Tage

Untersuchungsgut:

Serum, entnommen mit Standard-Probenentnahmeröhrchen.

Heparin- oder EDTA-Plasma.

Haltbarkeit: 24 Stunden bei +20°C bis +25°C
7 Tage bei +2°C bis +8°C

Serum bzw. Plasma ist innerhalb von 8 Stunden bei Raumtemperatur oder 48 Stunden bei +2°C bis +8°C vom Blutkuchen bzw. den Zellen abzutrennen.

Proben, die Präzipitate enthalten, müssen vor dem Test zentrifugiert werden.

Einschränkungen des Verfahrens - Interferenzen:

Als Bewertung gilt: Wiederfindung \pm 10% vom Ausgangswert.

Ikterus: Keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index I von 70 (ca. 70 mg/dl konjugiertes und unkonjugiertes Bilirubin).

Hämolyse: Keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index H von 425 (ca. 425 mg/dl Hämoglobin).

Lipämie (Intralipid): Keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index L von 425 (ca. 850 mg/dl Triglyceride). Es besteht keine zufriedenstellende Übereinstimmung zwischen Trübung und Triglyceridkonzentration.

Blutproben sollten nur vor der Verabreichung von Sulfasalazin und Sulfapyridin entnommen werden. Physiologische Plasmakonzentrationen von Sulfasalazin oder Sulfapyridin können zu falschen Ergebnissen führen.

Die Auswirkung von Medikamenten oder deren Metaboliten auf den Test ist nicht in allen Fällen bekannt. Im Zweifelsfall wird deshalb empfohlen, den Test nach Absetzen der Medikation zu wiederholen. Ein Absetzen der Medikation darf allerdings nur nach Anweisung des behandelnden Arztes erfolgen.

Hinweis:

In vitro Diagnostikum.



Warnung! R1 enthält Gefahrstoffe.

Weitere sicherheitsrelevante Informationen sind im Sicherheitsdatenblatt enthalten. Dieses steht auf unserer Homepage <http://www.analyticon-diagnostics.com> zum Download bereit.

Die beim Umgang mit Laborreagenzien üblichen Vorsichtsmaßnahmen beachten.

Testverfahren:

Gelieferte Materialien

• Gebrauchsfertige Lösungen wie vorher angegeben.

Zusätzlich benötigte Materialien

• Kalibrations- und Kontrollmaterial wie nachfolgend beschrieben.

• Natriumchlorid-Lösung (0,9%)

Messbereich:

11 - 400 U/l bzw. 0.18 - 6.67 μ kat/l.

Proben mit höheren Aktivitäten werden über die Rerun-Funktion mit NaCl-Lösung (0,9%) bestimmt.

Referenzbereich:

Auf Basis der IFCC-Methode.

	U/l	μ kat/l
Männer	<50	< 0.85
Frauen	< 35	< 0.60

Jedes Labor sollte die Übertragbarkeit der Referenzbereiche für die eigenen Patientengruppen überprüfen und gegebenenfalls eigene Referenzbereiche ermitteln. Für diagnostische Zwecke sind die AST Ergebnisse stets im Zusammenhang mit der Anamnese, der klinischen Untersuchung und anderen Untersuchungsergebnissen zu werten.

Sensitivität (analytische Nachweisgrenze):

4,5 U/l bzw. 0,075 μ kat/l

Die Nachweisgrenze entspricht der niedrigsten messbaren AST Aktivität, die von Null unterschieden werden kann.

Imprecision:

Die Reproduzierbarkeit wurde mit Kontrollproben von Tag zu Tag (n = 20) bestimmt und ergab folgende Ergebnisse:

Tag / Tag			
Probe	MW (U/l)	SD (U/l)	VK %
Probe 1	48,16	1,817	3,8
Probe 2	151,22	4,923	3,3
Probe 3	139,82	6,827	4,9

Die Reproduzierbarkeit wurde mit Kontrollproben in Serie (n = 20) bestimmt und ergab folgende Ergebnisse:

In der Serie			
Probe	MW (U/l)	SD (U/l)	VK %
Probe 1	47,27	1,047	2,2
Probe 2	146,91	1,568	1,1
Probe 3	101,93	1,204	1,2

Methodenvergleich:

Bei einem Vergleich von Analyticon Fluitest® AST (y) mit einem kommerziell erhältlichen Test (x) wurden mit 165 Proben folgende Ergebnisse erhalten:

$y = 0,943x - 0,355$; $r = 0,998$

Qualitätskontrolle:

Humanes Kontrollserum

Contronorm® Plus	5 x 5 ml	#1205
	20 x 5 ml	#1220
Contropath® Plus	5 x 5 ml	#1305
	20 x 5 ml	#1320

Die Kontrollintervalle und Kontrollgrenzen sind den individuellen Anforderungen jedes Labors und den länderspezifischen Richtlinien anzupassen. Die Ergebnisse müssen innerhalb der festgesetzten Bereiche liegen. Jedes Labor sollte Korrekturmaßnahmen für den Fall beschreiben, dass Werte außerhalb des Bereichs liegen.

Kalibration:

Kalibrations Typ: Linear

S1: 0,9% NaCl

S2: Bio Cal® E

10 x 3 ml

#1430

Kalibrationshäufigkeit:

Eine Zweipunktkalibration wird empfohlen bei

- Reagenzchargenwechsel
- wenn Qualitätskontrollverfahren dies erfordern

Entsorgung:

Bitte beachten Sie die jeweiligen gesetzlichen Vorschriften.

Literatur:

1. Bergmeyer HU, Herder M, Rej R. Approved recommendation (1985) on IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 2. IFCC Method for aspartate aminotransferase. J Clin Chem Clin Biochem 1986;24:49.
2. Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1986;32:470-474.
3. Greiling H, Gressner AM (Hrsg.). Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie, 3. Auflage. Stuttgart/New York: Schattauer Verlag, 1995
4. Karmen A et al. J Clin Invest 1955;24:126.
5. Schmidt FW. Ref Med Ges, Marburg/Lahn, December 1959.
6. Thefeld W et al. Dtsch med Wschr 1974;99:343.
7. Tietz NW (Hrsg.). Clinical Guide to Laboratory Tests, 3. Auflage. Philadelphia, PA: WB Saunders, 1995:76-77.
8. Wallnöfer H, Schmidt E, Schmidt FW (Hrsg.). Synopsis der Leberkrankheiten. Stuttgart: Georg Thieme Verlag, 1974.
9. Thomas L, Klein G. Neue vorläufige Normalbereiche für neun Serumenzyme. Deutsches Ärzteblatt 2006;103:Heft 7.
10. Schumann G et al. IFCC Primary Reference Procedures for the Measurement of Catalytic Activity Concentrations of Enzymes at 37°C – Part 5. Reference Procedure for the Measurement of Catalytic Concentrations of Aspartate Aminotransferase. Clin Chem Lab Med 2002;40(7):725–733.
11. Thefeld W, Hoffmeister H, Busch, E-W, Koller PU, Vollmar J. Referenzwerte für die Bestimmungen der Transaminasen GOT und GPT sowie der alkalischen Phosphatase im Serum mit optimierten Standardmethoden. Dtsch Med Wschr 1974;99:343-351.
12. Klein G, Lehmann P, Michel E, Regenauer H. Vergleich der IFCC-Methoden für ALAT, ASAT und GGT bei 37°C mit den eingeführten Standardmethoden bei 25°C und 37°C. Lab Med 1994;18:403-404.

Grau hinterlegte Textpassagen wurden in der letzten Überarbeitung dieser Gebrauchsanweisung geändert.