

GOT AST

ASPARTATE AMINOTRANSFERASE



Order information:

Catalog No.	Contents
11703	R1 1 x 65 ml R2 20 x for 3 ml
117	R1 1 x 110 ml R2 10 x for 10 ml
1174	R1 4 x 100 ml R2 4 x for 100 ml

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.

This method is derived from the IFCC reference method.

*TRIS = Tris(hydroxymethyl)-aminomethane

Test principle:

UV-Method recommended by the IFCC:

2-Oxoglutarate + L-Aspartate $\xrightarrow{\text{GOT}}$ Glutamate + Oxaloacetate

Oxaloacetate + NADH + H⁺ $\xrightarrow{\text{MDH}}$ Malate + NAD⁺

Reagent concentration:

R1:	
Tris buffer pH 7.8	80 mmol/l
L-Aspartate	200 mmol/l
R2:	
NADH	0.18 mmol/l
LDH	800 U/l
MDH	600 U/l
Oxoglutarate	12 mmol/l

Preparation and stability:

Dissolve enzyme reagent /R2 with the corresponding volume of buffer /R1.

Before first use wait at least 15 min.

This solution is stable: 1 week at +2 to +8°C

Unopened vials are stable: up to the expiration date at +2 to +8°C

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.

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.

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 900 (approximate haemoglobin concentration: 900 mg/dl).

Lipemia (Intralipid): No significant interference up to an index L of 450 (approximate triglycerides concentration: 900 mg/dl). There is poor correlation between turbidity and triglycerides concentration.

Lipemia may cause absorbance flagging as a result of an absorbance increase.

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.

Testing procedure:

Applications for automated systems are available on request.

Materials provided

• Working solutions as described above

Additional materials required

• Calibrators and controls as indicated below
• 0.9% NaCl

Manual procedure:

Wavelength: Hg 334 nm, Hg 340 nm or Hg 365 nm
Temperature: +25 / +30 / +37°C
Cuvette: 1 cm light path
Zero adjustment: against air or distilled water

	Macro	Semi	Micro
Working reagent	2500 μ l	1000 μ l	500 μ l
Sample	250 μ l	100 μ l	50 μ l

Mix, incubate for 1 min. at assay temperature and start stopwatch simultaneously. Read again after exactly 1, 2 and 3 minutes.

If the $\Delta A/\text{min}$. is between 0.11 and 0.25 at Hg 334 nm/ 340 nm or 0.06 and 0.130 at Hg 365 nm use only the values for the first 2 minutes for the calculation.

Calculation:

	Macro	Semi	Micro
Hg 340 nm $\Delta A/\text{min} \times$	1750	1750	1750
Hg 334 nm $\Delta A/\text{min} \times$	1790	1790	1790
Hg 365 nm $\Delta A/\text{min} \times$	3240	3240	3240

Measuring /reportable range:

Up to 440 U/l

$\Delta E/\text{min}$ 0.250 at 340 nm or $\Delta E/\text{min}$ 0.130 at 365 nm.

At higher activities dilute the sample with 0.9% NaCl or distilled/deionized water (e.g. 1+9). Multiply the result by the appropriate dilution factor (e.g. factor 10).

Expected values:

According to the IFCC method.

	25°C	30°C	37°C
Women	up to 16 U/l	up to 22 U/l	up to 35 U/l
Men	up to 19 U/l	up to 26 U/l	up to 50 U/l

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 patient's medical history, clinical examination and other findings.

Imprecision:

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

Between day			
Sample	Mean U/l	SD U/l	CV %
sample 1	33.2	0.67	2.02
sample 2	82.9	1.18	1.43
sample 3	148	2.06	1.40

Within run			
Sample	MW U/l	SD U/l	CV %
sample 1	33.4	0.76	2.29
sample 2	116	1.56	1.34

Analytical sensitivity (lower detection limit)

Detection limit: 4 U/l or 0.07 μ kat/l

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

Method comparison:

A comparison of the Analyticon AST (y) with a commercial obtainable assay (x) gave the following result with 48 samples:

$y = 0.992x - 0.022$; $r = 0.995$

GOT AST

ASPARTATE AMINOTRANSFERASE



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.

Calibration:

S1: 0.9% NaCl

S2: Bio Cal® E 10 x 3 ml #1430

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.

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



Bestellinformation:

Katalog-Nr.	Inhalt
11703	R1 1 x 65 ml R2 20 x für 3 ml
117	R1 1 x 110 ml R2 10 x für 10 ml
1174	R1 4 x 100 ml R2 4 x für 100 ml

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, welche durch 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, Substratstart und Pyridoxalphosphataktivierung zu vermeiden. Die vorliegende Bestimmung ist eine von der Referenzmethode nach IFCC abgeleitete Methode.

* TRIS = Tris(hydroxymethyl)-aminomethan

Testprinzip:

UV-Test nach Empfehlungen der IFCC (modifiziert):



Konzentration der gebrauchsfertigen Lösung:

R1:	
Tris Puffer pH 7.8	80 mmol/l
L-Aspartat	200 mmol/l
R2:	
NADH	0.18 mmol/l
LDH	800 U/l
MDH	600 U/l
Oxoglutarat	12 mmol/l

Herstellung und Haltbarkeit:

Den Inhalt einer Flasche R2 mit der entsprechenden Menge R1 lösen. Nach dem Lösen sollte das Reagenz vor Erstgebrauch 15 Min. stehen.

Haltbarkeit Arbeitsreagenz:	1 Woche	2–8°C
Haltbarkeit Ungeöffnet:	bis zum Ende des Haltbarkeitsdatums	2–8°C

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 900 (ca. 900 mg/dl Hämoglobin). Kontaminierung durch Erythrozyten kann zu erhöhten Werten führen.

Lipämie (Intralipid): Keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index L von 450 (ca. 900 mg/dl Triglyceride). Es besteht keine zufriedenstellende Übereinstimmung zwischen Trübung und Triglyceridkonzentration.

Bei lipämischen Proben mit starker Trübung kann infolge hoher Extinktionen eine Extinktionsüberschreitung ausgedruckt werden.

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:

Applikationen für automatisierte Systeme sind auf Anfrage erhältlich.

Gelieferte Materialien

• Gebrauchsfertige Lösungen wie vorher angegeben.

Zusätzlich benötigte Materialien

• Kalibrations- und Kontrollmaterial wie nachfolgend beschrieben.

• Natriumchlorid-Lösung (0.9%)

Manuelle Testdurchführung:

Wellenlänge:	Hg 334 nm, Hg 340 nm oder Hg 365 nm		
Temperatur:	+25 / +30 / +37°C		
Schichtdicke:	1 cm		
Messung:	Gegen Luft oder Aqua dest.		

	Macro	Halbmikro	Mikro
Arbeitsreagenz	2500 μ l	1000 μ l	500 μ l
Probe	250 μ l	100 μ l	50 μ l

Mischen und 1 Minute inkubieren. Anfangsextinktionen ablesen und Stoppuhr starten. Nach genau 1, 2 und 3 Minuten die Ablesung wiederholen und E/min. bilden.

Wenn Δ E/min. zwischen 0,11 und 0,25 bei Hg 334 nm/ 340 nm oder 0,06 und 0,130 bei Hg 365 nm, werden nur die Werte der ersten 2 Minuten für die Berechnung verwendet.

Berechnung:

	Macro	Semi	Micro
Hg 340 nm Δ A/min x	1750	1750	1750
Hg 334 nm Δ A/min x	1790	1790	1790
Hg 365 nm Δ A/min x	3240	3240	3240

Messbereich

Bis 440 U/l

Δ E/min 0,250 bei 340 nm oder Δ E/min 0,130 bei 365 nm.

Bei höheren Aktivitäten ist die Probe 1+9 mit NaCl-Lösung (0.9%) zu verdünnen, die Bestimmung zu wiederholen und das Ergebnis mit 10 zu multiplizieren.

Referenzbereich:

Auf Basis der IFCC-Methode.

	25°C	30°C	37°C
Frauen	bis 16 U/l	bis 22 U/l	bis 35 U/l
Männer	bis 19 U/l	bis 26 U/l	bis 50 U/l

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.

Impräzision:

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

Tag / Tag	MW U/l	SD U/l	VK %
Probe 1	33,2	0,67	2,02
Probe 2	82,9	1,18	1,43
Probe 3	148	2,06	1,40

In der Serie	MW U/l	SD U/l	VK %
Probe 1	33,4	0,76	2,29
Probe 2	116	1,56	1,34

Sensitivität (analytische Nachweisgrenze):

4 U/l bzw. 0.07 µkat/l

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

Methodenvergleich:

Bei einem Vergleich von Analyticon AST (y) mit einem kommerziell erhältlichen Test (x) wurden mit 48 Proben folgende Ergebnisse erhalten:

$y = 0,992x - 0,022$; $r = 0,995$

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:

S1: 0.9% NaCl

S2: Bio Cal® E 10 x 3 ml #1430

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.

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