

AST (GOT) Reagenz

Aspartat-Aminotransferase

KURZBESCHREIBUNG DES PRODUKTS

Stabilität	:	30 Tage bei 2-8°C
Linearer Bereich	:	bis zu 450 U/L
Probe Typ	:	Serum und Plasma
Methode	:	Kinetische UV
Reagenz-Vorbereitung	:	Hinzufügen der angegebenen Menge destillierten oder deionisierten Wassers

IVD

VERWENDUNGSZWECK

Dieses Reagenz dient der quantitativen In-Vitro-Bestimmung von AST (Aspartat-Aminotransferase EC2.6.1.1) in menschlichem Serum oder im Plasma bestimmt.

KLINISCHE BEDEUTUNG

AST ist weit verbreitet, wobei hohe Konzentrationen in Herz, Leber, skelettalem Muskelgewebe, Nieren und Erythrozyten zu finden sind. Schädigungen bzw. Erkrankungen dieser Gewebe, wie z.B. Herzinfarkt, virale Hepatitis, Zirrhose bzw. Nekrose der Leber und muskuläre Dystrophie können zu erhöhten AST-Werten führen.¹

METHODE

1955 beschrieb Karmen et al² den ersten kinetischen Test für AST zu Diagnosezwecken. Diese Methode wurde durch eine Reihe von Forschern, vor allem Henry et al³, ausgewertet und verbessert, und bildet nun die Grundlage für viele nationale und internationale empfohlene Prozeduren. Das AST Reagenz basiert auf den Empfehlungen des IFCC.⁴ Die Reaktionsfolge des Testsystems verläuft wie folgt:

1. L-Aspartat + 2-Oxoglutarat $\xrightarrow{\text{AST}}$ Oxaloacetat + L-Glutamat
2. Oxaloacetat + NADH $\xrightarrow{\text{MDH}}$ Malat + NAD
3. Proben-Pyruvat + NADH $\xrightarrow{\text{LDH}}$ L-Lactat + NAD

1. In der Probe vorkommendes AST katalysiert den Übergang der Aminogruppen von L-Aspartat zu 2-Oxoglutarat und bildet Oxaloacetat und L-Glutamat.
2. Oxaloacetat wird mittels NADH und Malatdehydrogenase (MDH) zu L-Malat reduziert. In dieser Reaktion wird NADH zu NAD oxidiert. Die Reaktion wird beobachtet, indem der Grad, in dem das Absorptionsvermögen bei 340nm durch die Oxidierung von NADH zu NAD abnimmt, gemessen wird.
3. Die Zugabe von Lactatdehydrogenase (LDH) zum Reagenz ist erforderlich, um eine schnelle und vollständige Reduzierung von endogenem Pyruvat zu erreichen, so dass es das Testergebnis nicht beeinträchtigt.

REAGENZZUSAMMENSETZUNG

Aktive Bestandteile	Konzentration
2-Oxoglutarat	13,2 mmol/L
L-Aspartat	220 mmol/L
MDH (schwinherz)	> 600 U/L
LDH (mikrobisch)	> 1000 U/L
NADH	> 0,18 mmol/L
Tris-Puffer	88 mmol/L
EDTA	5,5 mmol/L

Enthält auch nichtreaktive Füllstoffe und Stabilisatoren.
pH 8,0 ± 0,1 bei 20°C

WARNUNG: Nicht Einnehmen! Kontakt mit Augen und Haut vermeiden! Im Falle des Verschüttens die betroffenen Flächen gründlich mit Wasser waschen. Das Reagenz enthält Natriumazid und kann deshalb mit kupfer- oder bleihaltigen Leitungen reagieren. Wir empfehlen, nach dem Weggießen mit viel Wasser nachzuspülen. Für zusätzliche Informationen konsultieren Sie bitte das Material- und Sicherheitsdatenblatt mit dem Titel "AST(GOT)-Reagenz". Die Verpackung dieses Produkts enthält trockenen Naturkautschuk. Vorsicht beim Umgang mit Falzungen und zerbrochenen Glasspielen, da scharfe Kanten zu Verletzungen führen können.

R22 Gesundheitsschädlich beim Verschlucken.

S28 Bei Berührung mit der Haut sofort abwaschen mit viel Seife und Wasser.

REAGENZVORBEREITUNG

Bereiten Sie die Reagenzlösung vor, indem Sie die auf der Flasche angegebene Menge destillierten bzw. deionisierten Wassers hinzufügen.

SYMBOLE PRODUKTBEZEICHNUNG

	Autorisierter Vertreter		Temperaturbeschränkung
	Für in vitro Diagnostik		Verfallsdatum
	Batch Code / Losnummer		VORSICHT: Siehe Benutzungsvorschriften
	Katalognummer		Hergestellt von
	Siehe Benutzungsvorschriften		Xn - Gesundheitsschädigend

STABILITÄT UND LAGERUNG

Vor der Benutzung:

Bei gekühlter Lagerung bei einer Temperatur von 2-8 °C ist das Reagenz bis zu dem auf der Flasche und Testschachtel angegebenen Verfallsdatum stabil.

Rekonstituiertes Reagenz:

Das Reagenz ist bei verschlossener Lagerung in 2-8°C für wenigstens 30 Tage stabil.

Indikationen einer Verschlechterung des Reagenz:

- Trübung
- Absorptionsvermögen <1,1 bei 340 nm (1 cm);und/oder
- Beobachtete Kontrollwerte sind außerhalb des erlaubten Bereichs.

PROBENSAMMLUNG UND HANDHABUNG

Serum: nicht-hemolysiertes Serum verwenden.

Plasma: Nicht hämolysiertes Plasma verwenden.

Aufbewahrung: AST-Proben können bei 4°C für wenigstens 7 Tage aufbewahrt werden.⁴

ZUSÄTZLICH BENÖTIGTE, JEDOCH NICHT GELIEFERTE AUSRÜSTUNG

- Klinisches Chemie-Messgerät, das eine konstante Temperatur (37°C) sowie ein Mess-Absorptionsvermögen von 340 nM beibehalten kann.
- Gerätespezifische Materialien, z.B. Probebehälter, usw.
- Destilliertes oder deionisiertes Wasser für die Aufbereitung des Reagenz und entsprechende Hilfsgeräte (z.B. Pipette).
- Bereits gemessenes, normales und abnormales Kontrollmaterial.

TESTVERFAHREN (ASSAY VERFAHREN/PROZEDUR)

Die folgenden Testparameter werden empfohlen: Einzelne Anwendungen des Instruments können auf Anfrage von der Technischen Unterstützungsgruppe erhalten werden.

TEST PARAMETER

Temperatur	37°C
Wellenlänge	340 nm
Test Typ	Anteil/Kinetisch
Richtung	Abnahme
Probe : Reagenz ratio	1:10
eg: Probe Volumen	30 µL
Reagenz Volumen	300 µL
Verzögerung/Lag	60 Sekunden
Lesezeit	60 Sekunden
Reagenz-Blindprobe	niedrig 1,1 AU
(1cm lightpath, 340nm)	Hoch 2,0 AU
Linearität	0 - 450 U/L
(siehe Abschnitt Linearität)	
Sensitivität	0,57 DmA/min pro U/L
(1cm Lichtweg, 340nm)	

BERECHNUNGEN

Die Resultate werden - normalerweise automatisch vom Instrument - wie folgt berechnet:

Aktivität in U/L = ΔAbs/min x Faktor

$$\text{Faktor} = \frac{\text{TV} \times 1000}{6,3 \times \text{SV} \times \text{P}}$$

Wobei:

TV = Gesamte Reaktionsmenge in mL

SV = Probemenge in mL

6,3 = millimolarer Absorptionskoeffizient von NADH bei 340nm (Siehe Anmerkung 4).

P = Küvetten-Weglänge in cm.

Beispiel:

DAbs/min = 0,10
 Faktor = 1746
 AST = 0,10 x 1746 = 175 U/L

BEMERKUNGEN

- Die Reagenz- und Probenmengen können proportional geändert werden, um sie verschiedenen Photospektrometern anzupassen.
- Falls das Absorptionsvermögen sich um mehr als 0,26/min verändert, wiederholen Sie den Test mit einer kleineren Probe bzw. verdünnen Sie mit Salzlösung. Denken Sie daran, den Faktor für die kleinere Menge zu verändern bzw. das Endresultat mit dem Verdünnungsfaktor zu multiplizieren.
- Gültige Resultate hängen vom genau kalibrierten Instrument, sowie akkurater Zeitnahme und Temperaturkontrolle ab.
- Der millimolare Absorptionskoeffizient für NADH bei 334nm = 6,18 und bei 365nm = 3,40.
- Einheitsumrechnung: U/L x 16,67 x 10⁻³ = µkat/L

KALIBRIERUNG

Nicht erforderlich. Der Reaktionsgrad wird mittels Berechnungsfaktor zu U/L -Aktivität umgerechnet. Siehe Abschnitt über Berechnungen dieser Packungsbeilage.

QUALITÄTSKONTROLLE

Um eine angemessene Qualitätskontrolle sicherzustellen, sollten bekannte (gemessene) normale und abnormale Proben zusammen mit den unbekannt Proben getestet werden:

- Mindestens alle acht Stunden.
 - Beim Gebrauch einer neuen Reagenzflasche.
 - Nach Wartung oder nach dem Austausch einer wichtigen Komponente.
- Kontrollresultate, die außerhalb der niedrigen oder hohen Grenzwerte des normalen Bereichs fallen, deuten darauf hin, dass der Test ungültig ist. Für solche Situationen empfehlen wir die folgenden korrektiven Maßnahmen:
- Wiederholen Sie dieselben Kontrollen.
 - Falls die erneuten Kontrollwerte außerhalb der Grenzwerte liegen, bereiten Sie frisches Kontrollserum vor und wiederholen Sie den Test.
 - Falls die Resultate frischen Kontrollmaterials immer noch außerhalb der Grenzwerte liegen, wiederholen Sie den Test mit frischem Reagenz.
 - Falls die Resultate immer noch außerhalb der normalen Werte liegen, wenden Sie sich an den Technischen Kundendienst oder Ihren lokalen Händler.

BESCHRÄNKUNGEN

- Interferenzstudien für Hämoglobin, Bilirubin, Pyruvat und Lipämie wurden mit folgenden Resultaten durchgeführt:
Hämoglobin: Keine Interferenz von Hämoglobin bis zu 920 mg/dL.
Bilirubin: Keine Interferenz von Bilirubin bis zu 1000 µmol/L (60 mg/dL).
Pyruvat: Keine Interferenz von Pyruvat bis zu 0,60 mmol/L.
Lipämie: Keine Interferenz von Lipämie, als Triglyzeride gemessen, bis zu 6,0mmol/L (530 mg/dL).
- Hämolytierte Serumproben sollten nicht verwendet werden. Die AST-Aktivitätswerte in Erythrozyten sind etwa fünfzehnmal höher als in Seren.⁵
- Young DS⁶ hat eine umfassende Liste der beeinträchtigenden Wirkstoffe und Substanzen veröffentlicht.

ERWARTETE WERTE⁷

Bei 37°C 5-34 U/L

In Neugeborenen und Säuglingen werden ungefähr die doppelten Werte von Erwachsenen gemessen. Diese Werte reduzieren sich nach 6 Monaten auf die normalen Erwachsenenwerte.

Die angegebenen Werte sind stellvertretend für den erwarteten Wertebereich bei dieser Methode und sollten nur als Richtlinie gelten. Es wird empfohlen, dass jedes Labor diesen Bereich verifiziert oder für die von ihm betreute Bevölkerungsgruppe ein Referenzintervall ableitet.⁸

LEISTUNGSDATEN

Die folgenden Daten wurden mithilfe des AST(GOT) Reagenz auf einem sich in gutem Zustand befindlichen automatischen klinischen Analysegerät erhalten. Benutzer sollten die Produktleistung für ihr spezifisches Analysegerät festlegen.

UNGENAUIGKEIT

Innerhalb des Testlaufs:	Stufe I	Stufe II
Zahl d. Daten Punkte	20	20
Durchschnitt(U/L)	33	169
SD (U/L)	0,44	0,88
CV (%)	1,32	0,52
Zwischen Tag	Stufe I	Stufe II
Zahl d. Daten Punkte	20	20
Durchschnitt (U/L)	34	308
SD (U/L)	1,57	8,24
CV (%)	4,69	2,68

EXAKTHEIT (GENAUIGKEIT)

Es wurden mittels eines ähnlichen im Handel erhältlichen Reagenz Vergleichsstudien durchgeführt. Serumproben wurden parallel getestet und die Ergebnisse mittels der Methode der kleinsten Quadrate verglichen. Es entstand die folgende Statistik.

Zahl der Probenpaare	50
Bereich der Proben	7 - 298 U/L
Durchschnitt der Referenzmethode	48 U/L
Durchschnitt der AST(GOT) Resultate	45 U/L
Steigung	0,96
Schnittpunkt	-0,78 U/L
Korrelations-Koeffizient	0,997

LINEARITÄT

Bei empfohlener Durchführung ist der Test bis zu 450 U/L.


SENSITIVITÄT

Bei empfohlener Durchführung beträgt die Sensitivität dieses Tests 0,57 ΔmA/min pro U/L.

LITERATURHINWEISE

- Zilva JF, Pannall PR. "Plasma Enzymes in Diagnosis" in Clinical Chemistry in Diagnosis and Treatment. Lloyd-Luke London. 1979; Chap 15:338-9.
- Karmen A. J Clin Investigation 1955; 43:131.
- Henry RJ, et al. Am J Clin Path 1960; 34:381.
- IFCC Method for L-Aspartate aminotransferase. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 1986; 24:497-510.
- Burtis CA, Ashwood ER, "Tietz textbook of Clinical Chemistry" Second Edition, 1994; 795.
- Young DS, Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. Third Edition. 1990: 3:45-52.
- Murray RL. "Aspartate aminotransferase" in Clinical Chemistry. Theory, analysis and correlation. Kaplan LA, Pesce AJ (Ed), CV Mosby Company 1984; 1105-8.
- Wachtel M et al, Creation and Verification of Reference Intervals. Laboratory Medicine 1995; 26:593-7.

© 2008 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved.

 Fisher Diagnostics
 a division of Fisher Scientific Company, LLC
 a subsidiary of Thermo Fisher Scientific Inc.
 Middletown, VA 22645-1905 USA
 Phone: 800-528-0494
 540-869-3200
 Fax: 540-869-8132

 MDCI Ltd.
 Arundel House
 1 Liverpool Gardens
 Worthing, West Sussex BN11 1SL UK



REF

Nachbestellinformation

Katalog Nr.	Konfiguration
1180-200	20 x 10 mL
TR17515	20 x 20 mL
TR17503/1180-500	10 x 50 mL
TR17504	10 x 200 mL