

Kódszám:	46263	46261	46262
Kiszerezés:	10x30 ml	120 ml	600 ml
	(10x20 ml+ 10x10 ml)	(1x80 ml+ 1x40 ml)	(1x400 ml+1x200 ml)

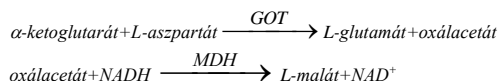
A szérumban aszpartát-aminotranszferáz (AST/GOT) aktivitásának meghatározására szolgáló reagenskészlet. IFCC ajánlás szerinti optimalizált kinetikus UV-teszt.

Az aszpartát-aminotranszferáz enzim többféle szöveti eredetű, dimer molekula. Monomerenként egy molekula piridoxál-foszfátot (koenzim) tartalmaz, ami a katalitikus aktivitáshoz szükséges. A sejteken belüli előfordulásuk szerint két izoenzim különböztethető meg, a mitokondriális m-AST, és a citoszolban lévő szolubilis s-AST, pH optimumuk különböző. A két izoenzim elektroforézissel elválasztható. Az enzim aminosoportok átvitelét katalizálja aminosavak, α-ketosavak átalakulása során.

A szérumban aszpartát-aminotranszferáz (AST/GOT) aktivitását a szív, máj, vese és az izomszövetek betegségei (sérülés, működési rendellenesség) jelentősen megemelik. Szívinfarktust követően 4-8 óra múlva az enzimaktivitás nő, 2-3 nap múlva eléri a maximumát, az 5-6. napon csökken.

A meghatározás elve

Az AST/GOT által katalizált reakcióban két szubsztrát vesz részt, az L-aszpartát és az oxoglutarát. A reagensben lévő malát-dehidrogenáz (MDH) segédenzim az első reakcióban keletkezett oxalacetát átalakulását segíti a NADH koenzim közreműködésével. A NADH-NAD⁺ oxidációs-redukációs folyamatot 340 nm-en mért abszorbanciacsökkenés kíséri. A reakcióelegyben lévő LDH a vizsgálati anyag piruvát tartalmának zavaró hatását kűszöböli ki.



Referencia-értéktartomány

Férfiak: 5-45 U/l (0,085-0,765 μkat/l)
 Nők: 5-40 U/l (0,085-0,67 μkat/l)

Minden laboratóriumnak ajánlott a saját normálérték-tartományát meghatározni.

Reagens

1. Reagens (R1)

Tris puffer, pH=7.80	88 mmol/l
L-aszpartát	260 mmol/l
LDH	1500 U/l
MDH	900 U/l
NADH	240 μmol/l

2. Reagens (R2)

α-ketoglutarát	12 mmol/l
----------------	-----------

Figyelmeztetés

Zavaros reagens felhasználása tilos. A szennyezések elkerülésére csak tiszta laboratóriumi eszközöket szabad használni. A reagens nátrium-azidot tartalmaznak (0.1%). Az azidvegyületek keletkezésének elkerülése érdekében, a reagens kiöntése után a lefolyót vízzel öblítsük ki.

Minta

Hemolizismentes szérumban. Hemolízis, lipémia zavarja a meghatározást. Stabilitás: 7 nap (2-8°C)

A reagens stabilitása

A reagens fénytől védve és 2-8 °C-on tárolva felbontás nélkül: a címkén jelzett időpontig
 felbontás után: 28 nap
 kalibrációs gyakoriság: 7 nap
 onboard stabilitás: 7-28 nap
 A stabilitások kizárólag új rendszerflakon használata esetén érvényesek!

A vizsgálat kivitelezése

Munkareagens készítése és stabilitása

•Egykomponensű reagens készítése:
 Keverjük össze két térfogatnyi R1 reagenst egy térfogatnyi R2 reagenssel.
 stabilitása: 20-25°C-on: 5 nap
 2-8°C-on: 4 hét

•Eljárás két reagens alkalmazásával:
 A reagens felhasználásra kész.

Mérési eljárás

Hullámhossz: 340nm (334-365) nm
 Hőmérséklet: 37°C
 Fényút: 1 cm
 Mérés: kinetikus (csökkenő)
 Leolvasás: desztillált vízzel szemben
 Amennyiben a munkareagens abszorbanciája 334 nm-en nem éri el az 1,2-t a reagens nem használható.

Bemérés egy reagens esetén:

Munkareagens	1 ml
Minta v. kontroll	100μl

Keverjük össze és 1 perces inkubálás után mérjük meg az abszorbanciákat percenként (ΔA/perc), 3 percen keresztül.

Bemérés két reagens esetén:

R1 reagens	1 ml
Minta v. kontroll	150μl

Keverjük össze és inkubáljuk egy percig.

R2 reagens	500μl
------------	-------

Keverjük össze és 1 perces inkubálás után mérjük meg az abszorbanciákat percenként (ΔA/perc), 3 percen keresztül.

Kalibráció (IFCC módszer piridoxál-foszfát nélkül, 37°C)

S1: Desztillált víz

S2: Diagnosticum DunaCal Katalógusszám: Dcal vagy Roche C.F.A.S. (Calibrator for automated system) vagy Randox Calibration Serum Level I vagy Randox Calibration Serum Level II

Ajánlott új kalibrációt végezni:

- új gyártási számú készlet felbontásakor,
- ahogy ezt a laboratórium belső minőségügyi rendszere előírja.

Az eredmény kiszámítása

$$\frac{\Delta A_{\text{minta}}}{\Delta A_{\text{standard}}} \times C_{\text{standard}} = C_{\text{minta}}$$

A=abszorbancia

C=konzentráció

Az eredmények kiszámítása faktorral

340 nm: aktivitás (U/l) = ΔA/perc x 2000

334 nm: aktivitás (U/l) = ΔA/perc x 1790

Belső minőségellenőrzés

A minőségellenőrzés ajánlott minden laboratóriumnak. Két különböző szintű (egy normál és egy emelkedett) kontrollt javasolunk. A kontrollok mért értékeinek a gyártó által meghatározott tartományba kell esniük. Ha a tartományon kívül esnek az értékek, ajánlott korrigálni a méréseket. Ajánlott kontrollok: Diagnosticum DunaCont N (Katalógusszám: Dcon-N) és DunaCont P (Katalógusszám: Dcon-P)

A reagens teljesítményjellemzői

A méréseket Olympus 400-as automatán végeztük (37°C). Átváltás: [U/l]=[μkat/l]×60

Linearitás

A módszer 5 – 260 U/l (0,083 – 4,33 μkat/l) tartományban lineáris

Kimutatási határ

A kimutatási határ 0,67 U/l

Érzékenység

Minden laboratórium számára ajánlott meghatározni saját érzékenységi határt, mivel ezt alkalmazott spektrofotométer érzékenysége is befolyásolja. A kézi mérés körülményei között 0,001 Abs/min 334 nm-en mért abszorbanciaváltozás megegyezik 1,79 U/l (0,03μkat/l) GOT aktivitással.

Precizitás

n=20	ismételhetőség		reprodukálhatóság		
	Aktivitás U/l	SD	CV%	Aktivitás U/l	SD
38,3	0,79	2,07	19,1	0,19	1,02
134	1,49	1,11	128	1,41	1,10
			227	1,55	0,68

Korreláció

Reagensünket összehasonlítottuk más gyártó GOT reagensével.

A korrelációs regresszió adatai a következők:

korrelációs koefficiens: r = 0,9998

lineáris regresszió: y (U/l) = 0,992x + 0,729

(x= más gyártó reagens, y= saját reagens).

Szelektivitás

Hemoglobin 0,1 g/l-ig (1,6 μmol/l), bilirubin 0,5 g/l-ig (855 μmol/l), lipid 3 g/l-ig, glükóz 10 g/l-ig (55,5 mmol/l) aszkorbinsav 0,5 g/l-ig (2,84 mmol/l) nem befolyásolja a mérést.










Megjegyzés

A teszt nem tartalmaz piridoxál-foszfátot.

Ne használja a reagenst a csomagolása címkéjén feltüntetett lejárati dátum eltelté után. A készítményeket, tesztoldatokat és reagenset csak az itt leírt teszthez szabad felhasználni.

Csak in vitro diagnosztikai használatra alkalmas!

A címkéken a következő szimbólumok lehetnek

	In vitro diagnosztikai orvostechnikai eszköz		Gyártási szám
	Gyártó		Kódszám
	CE-jelölés		Tárolási irány
	Tárolási hőmérséklet		Biológiai veszély
	Lejárati idő (év/hónap)		

Irodalom

Expert Panel on enzyme of the IFCC, Clin. Chem. Acta, 1976, 710:F19

Szabó A.: Klinikai laboratóriumi vizsgálatok és paraméterek (2010) (ISBN 978-963-9879-75-1)

Verzió: 62-DL-2016-08

Felülvizsgálat dátuma: 2016-12

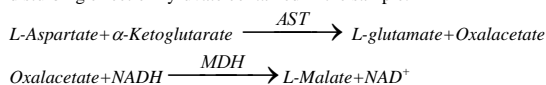
Cat. No.:	46263, 216265	46261, 216263	46262, 216264
Size:	10x30 ml	120 ml	600 ml
	(10x20 ml+ 10x10 ml)	(1x80 ml+ 1x40 ml)	(1x400 ml+1x200 ml)

Reagent kit for the determination of the aspartate aminotransferase (AST) activity in serum based upon IFCC recommendations.

AST originates in various tissues and is a dimer molecule containing one molecule of Pyridoxal phosphate (coenzyme) in each monomer, which is essential to its catalytic activity. Depending on the sites of origin inside the cell there are two isoenzymes with different pH optimum: the mitochondrial m-AST, and the soluble cytosolic S-AST. The two isoenzymes can be separated by electrophoresis. The enzyme catalyses the transfer of amino groups during the metabolism of Amino acids and, alpha-Ketoacids. The activity of AST in the serum is significantly increased during heart, liver, kidney and muscle diseases (tissue injuries, functional disorders). The activity of the enzyme is increased 4-8 hours following a myocardial infarction, reaching its peak in 2-3 days and declining on the fifth and sixth days.

Principle

Two substrates participate in the reaction catalyzed by AST, L-aspartate and Oxalglutarate. With the help of NADH coenzyme, Malate dehydrogenase (MDH) contained in the reagent catalyses the transformation of Oxalacetate released in the first reaction. The oxido-reductive process of NADH/NAD⁺ is indicated by a decrease in absorbance at 340 nm. The Lactate dehydrogenase (LDH) in the medium counteracts the disturbing effect of Pyruvate contained in the sample.



Reference values

Male: 5-45 U/l (0,085-0,765 μ kat/l)
 Female: 5-40 U/l (0,085-0,67 μ kat/l)

It is recommended that each laboratory should assign its own normal range.

Reagents

1.Reagent (R1)

Tris buffer, pH:7.80	88 mmol/l
L-Aspartate	260 mmol/l
LDH	1500 U/l
MDH	900 U/l
NADH	0.24 mmol/l

2.Reagent (R2)

α -Ketoglutarate	12 mmol/l
-------------------------	-----------

Samples

Serum free of haemolysis. Haemolysis, lipaemia interferes with the test. Stability: 7 days (2-8°C)

Stability

without opening:	till the expiry date indicated on the label
after opening:	28 days
calibration frequency:	7 days
onboard stability:	7-28 days

Stability data are valid only when using new system bottle!

Precaution

These reagents contain 0.1 % sodium azide. Discard cloudy reagent. To avoid the possible build-up of azide compounds, flush waste-pipes with water after the disposal of undiluted reagent. Avoid contamination by using clean laboratory materials (pipettes, plastic vials for analyzers, ...).

PROCEDURE

Preparation and stability of working reagent

- One-reagent procedure:

Mix 2 volumes of reagent 1 with 1 volume of reagent 2.

Stability: Keep the reagent protected from light.

at 20-25 °C :	5 days
at 2-8 °C:	4 weeks

- Two-reagent procedure: reagents are ready for use.

If the absorbance of working reagent is lower than 1.2 at 334 nm the reagent can not be used.

Assay conditions

Wavelength :	340 (334-365) nm
Temperature :	37°C
Cuvette :	1 cm light path
Read against:	distilled water
Method:	kinetic (decreasing)

One reagent procedure

Working reagent	1 ml
Sample or Control	100 μ l

Mix and after a 1-minute incubation, measure the change of absorbance per minute ($\Delta A/min$) during 3 minutes.

Two reagent procedure

R1	1 ml
Sample or Control	150 μ l

Mix, incubate for one minute 37°C and add:

R2	500 μ l
----	-------------

Mix and after a 1-minute incubation, measure the change of absorbance per minute ($\Delta A/min$) during 3 minutes.

Calibration (37°C, IFCC method without pyridoxal-phosphate)

S1: Distilled water

S2: Diagnosticum DunaCal Cat. No.: Deal or Roche C.F.A.S. (Calibrator for automated system) or Randox Calibration Serum Level I or Randox Calibration Serum Level II

Calibration frequency

Two point calibration is recommended

- after reagent lot change,

- as required following quality control procedures.

Calculation using calibration

$$\frac{\Delta A_{\text{sample}}}{\Delta A_{\text{standard}}} \times C_{\text{standard}} = C_{\text{sample}}$$

A = Absorbance

C = Concentration

Calculation using factor

340 nm: Activity (U/l)= $\Delta A/min.$ x 2000; 334 nm: Activity (U/l)= $\Delta A/min.$ x 1790

340 nm: Activity (μ kat/l)= $\Delta A/min.$ x 33,33; 334 nm: Activity (μ kat/l)= $\Delta A/min.$ x 54,24

Quality control

A quality control program is recommended for all clinical laboratories. The analysis of control material in both the normal and abnormal ranges with each assay is recommended for monitoring the performance of the procedure. Each laboratory should establish corrective measures to be taken if values fall outside the limits. Recommended controls: Diagnosticum DunaCont N (Cat. No.: Dcon-N) and DunaCont P (Cat. No.: Dcon-P)

PERFORMANCE DATA

The following data were obtained using the Olympus 400 analyzer (37°C). Conversion factor: [U/l]=[μ kat/l]>60

Linearity

The method is linear in the range 5 – 260 U/l (0,083 – 4,33 μ kat/l)

Limit of detection

The limit of detection is 0,67 U/l

Sensitivity

It is recommended that each laboratory establishes its own range of sensitivity as this is limited by the sensitivity of the spectrophotometer used. Under manual conditions however, a change of 0.001 Abs units/min is equivalent to 1.79 U/l (0,03 μ kat/l) GOT activity at 334 nm.

Precision

n=20 Activity U/l	repeatability		reproducibility		
	SD	CV%	Activity U/l	SD	CV%
38,3	0,79	2,07	19,1	0,19	1,02
134	1,49	1,11	128	1,41	1,10
			227	1,55	0,68

Correlation

Comparative studies were done to compare our reagent with another commercial GOT reagent. The results from these studies are detailed below.

Correlation coefficient: r = 0.9998

Linear regression: y (U/l)= 0.992x+0.729

(x= other commercial reagent, y= own reagent).

Specificity

Hemoglobin 1.6 μ mol/l (10 mg/dl), bilirubin 855 μ mol/l (50 mg/dl), lipid 300 mg/dl, glucose 55.5 mmol/l (1000 mg/dl) and ascorbic acid 2.84 mmol/l (50 mg/dl) don't interfere with the assay up to the given levels.










Note

The test doesn't contain pyridoxal-phosphate.

Do not use reagents after the expiry date stated on each reagent container label. Do not use products, test solutions and reagents described above for any purpose other than described herein.

For in vitro diagnostic use only.

The following symbols can be used on the labels

	In vitro diagnostic device		Batch code
	Manufacturer		Catalogue number
	CE-marking		This way up
	Temperature limitations		Biological risk
	Use by (year/month)		

Bibliography

Expert Panel on enzyme of The IFCC, Clin. Chim. Acta, 1976,70:F19.
 Szabó A.: Klinikai laboratóriumi vizsgálatok és paraméterek (2010) (ISBN 978-963-9879-75-1)

Version: 62-DL-2016-08

Date of revision: 2016-12