

REF	CONT	REF	CONT	REF	CONT
GOT-11100	2x40mL+2x10mL	GOT-11228M	4x45mL+2x24mL	GOT-11100A2	4x20mL+2x10mL
GOT-11250	5x40mL+1x50mL	GOT-11228P	4x45mL+2x24mL		
GOT-11500	5x80mL+1x100mL	GOT-11300M2	6x40mL+3x20mL		
GOT-11160A	4x32mL+4x8mL	GOT-11200M3	4x40mL+2x20mL		

2-8 °C



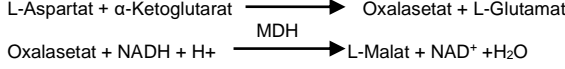
KULLANIM AMACI

Serumdaki Aspartat Aminotransferaz (AST) miktarının in vitro olarak belirlenmesi.

METODOLOJİ

Karmen 1955'de malat dehidrogenaz ve NADH kullanımına dayalı bir kinetik prosedür geliştirmiştir. Bu prosedürün iyileştirilmiş olanları 1960'da Henry ve 1962 de Amador ve Wacker tarafından ileri sürülmüştür. Bu değişiklikler doğruluğu arttırmış ve interferan etkilerini azaltmıştır. IFCC 1986'da P-5-P nin dahil edildiği bir yöntem tavsiyesi yayınlamıştır. Şimdiki yöntem IFCC tavsiyelerine dayanmakta ancak P-5-P içermemektedir.

Prensip:



Aspartat aminotransferaz (AST) amino grubunun L-Aspartat'tan α -Ketoglutarat geçişine katalizörülük yaparak Oxalasetat ve L-Glutamat oluşumuna neden olur. Oxalasetat, malat dehidrogenaz (MDH) katalizörülüğündeki gösterge reaksiyonunda NADH 'in NAD'a oksidasyon olmasıyla birlikte indirgenir. Sonuç olarak absorbansta ortaya çıkan azalmanın oranı AST aktivitesi ile doğru orantılıdır. Serum içinde normal olarak bulunan özgün piruvatın interferan etkisini engellemek üzere Laktat Dehidrogenaz (LDH) ilave edilir.

REAKTİFİN BİLEŞİMİ

Aktif İçerik	Konsantrasyon
Reaktif 1	
Tris Tampon	100 mmol/L
L-Aspartik asit	330 mM
Malat dehidrogenaz (MDH)	>1000 U/L
LDH	>2000 U/L
pH 7.8 ± 0.1	
Reaktif 2	
NADH	1.1 mM
α -Ketoglutarik asit	78 mM
Sodyum azid	0.01 %
pH 10.0 ± 0.1	

REAKTİFİN HAZIRLANMASI

Çalışma reaktifi 4kısım R1 ile 1kısım R2 karıştırılarak hazırlanır. (Örnek:200 μ l R1+50 μ l R2)

REAKTİFİN DEPOLANMASI

1. Reaktifi 2-8°C 'de muhafaza edin.
2. Çalışma reaktifi oda sıcaklığında (20 – 25°C) 5 gün, 2 – 8 °C de 2 hafta dayanıklıdır.

REAKTİFİN BOZULMASI

Aşağıdaki durumlarda reaktifi kullanmayın:

1. 340 nm'de suya karşı başlangıç absorbanı 1,0 'in altında ise
2. Reaktif parametreleri performans parametrelerini karşılamıyor ise.

UYARILAR:

1. Bu reaktif sadece in vitro teşhis içindir

REAKTİF 1:

Reaktif 1, Sodyum azide ve Sodyum hidroksit içerir.

H315 Cilt tahrişine yol açar

H319 Ciddi göz tahrişine yol açar

P302+P352 Deri ile temas halinde bol sabun ve su ile yıkayınız.

P305+P351+P338 Gözle teması halinde suyla birkaç dakika durulayınız. Takılı ve yapması kolaysa kontakt lensleri çıkarınız. Durulamaya devam ediniz.

ÖRNEK ALINMASI VE MUHAFAZASI

1. Hemoliz olmamış serum tavsiye edilir. Alyuvarlar AST içerirler.
2. Serum içerisindeki AST buzdolabında 28 gün, donmuş olarak en az 1 yıl, oda sıcaklığında 24 saat dayanır.

İNTERFERAN ETKİ

Bilirubin: 40 mg/dL ye kadar interferan etki söz konusu değildir.

Hemoglobin: 500 mg/dL ye kadar interferan etki söz konusu değildir.

Lipemi: 1500 mg/dL ye kadar Trigliserid varlığında interferan etki söz konusu değildir.

Askorbik asit: 25 mg/dL ye kadar interferan etki söz konusu değildir.

GEREKLİ OLUP TEMİN EDİLMESİ GEREKEN İLAVE DONANIM

1. Ölçümlü pipetler.
2. Analizörün ilgili sarf malzemeleri, örneğin kaplar
3. Kronometre
4. 340 nm de absorban ölçebilecek spektrofotometre.
5. 37 °C sıcak banyo

PROSEDÜR

Dalga Boyu	: 340 nm
Test Tipi	: Kinetik
Reaksiyon Yönü	: Azalan
Sıcaklık	: 37 °C
Optik Yol	: 1 cm

1. Reaktifleri oda sıcaklığına getiriniz(15-30°C).
2. Distile su ile fotometrenin (0) ayarı yapılır.

	Numune
Reaktif 1	800 μ L
Reaktif 2	200 μ L
Örnek	100 μ L

3. Karıştırılır ve 37 °C de inkübe edilir
4. 60 sn sonra başlangıç absorbanı okunur.
5. Tüp tekrar 37°C ye konur.
6. Sonraki 1.,2. ve 3. Dakikalarda okuma tekrarlanır
7. Dakika başına ortalama absorban farkı hesaplanır(Δ Abs./min) Δ Abs./min değerinin 1746 ile çarpımıyla U/L cinsinden sonuç elde edilir.

Prosedür Notları:

1. Eğer spektrofotometre ısı kontrol kuvveti ise absorbanlar okunurken reaksiyon karışımı kuvvet içinde bırakılabilir
2. Bulanık veya yüksek düzeyde sararmış numuneler spektrofotometrenin kapasitesini aşan başlangıç absorban değerleri verebilir. Daha doğru sonuçlar 50 μ L numune kullanıp sonucun iki ile çarpılmasıyla elde edilebilir.

KISITLAMALAR :

1. 500 U/L yi aşan değerlerde serum fizyolojik ile 1:1 sulandırma yapıp tekrar tahvil edilerek sonuç 2 ile çarpılır.
2. Vitamin B6 eksikliği olan hastalarda AST aktivitesi düşebilir, tahminen pridoksal fosfat eksikliğindedir.

KALİBRASYON:

Prosedür, açıklanan test koşulları altında 340nm'de 6.22 olarak alınan NADH'nin milimolar soğurulması aracılığıyla standardize edilmiştir.

HESAPLAMA:

Bir ünite (U/L) : İstenilen koşullarda dakikada bir mikromol substratın dönüşümünün katalizleyen enzim miktarıdır.

AST(U/L)= Δ Abs./dak x 1746

KALİTE KONTROL

Reaksiyonun bütünlüğü,bilinen AST değerleri olan iki seviye kontrolü kullanılarak takip edilmelidir.

NORMAL DEĞER ARALIĞI

37°C de < 40 U/L

Her laboratuvarın kendi normal limitlerini oluşturması tavsiye edilir.

PERFORMANS

Hassasiyet/ Tespit Limiti (LOD) :

Alt tespit limiti 1,95 U/L'dir

Lineerite:

Tavsiye edildiği şekilde çalışıldığında test 500 U/L' ye kadar lineerdir.

Bunu değeri aşan numuneler NaCl (9 g/L) ile 1+1 dilüe edilir ve sonuç 2 ile çarpılır.

Kesinlik :

	Çalışma içi (n=20)	Çalışma arası (n=20)		
Ort (U/L)	43,7	138,9	43,8	139,0
SD	0,51	1,38	0,49	1,03
CV(%)	1,16	1,00	1,12	0,74

Doğruluk (Methot Karşılaştırma) :

BT PRODUCTS Reaktifi ile elde edilen sonuçlar (y), başka bir ticari reaktif (x) ile karşılaştırıldığında sistematik olarak farklılık göstermemiştir. 40 örnek çalışılarak elde edilen sonuçlar aşağıdaki gibidir:

Etkileşim katsayısı(r) =0.9979

Regresyon eşitliği y=1,023x +0,4036 (iki reaktifle çalışma)

Performans karakteristik sonuçları kullanılan cihaza bağlıdır.

BİLİMSEL KAYNAKÇA

1. Henderson,A.R.Moss.D.W,Enzymes,Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry 5th Ed.Burtis,C.A &Ashwood,E.R(W.B Saunders eds.Philadelphia USA),(2001),352
2. Tietz, N.W., Clinical Guide to Laboratory tests, 3 rd Ed.(W.B. Saunders eds. Philadelphia USA (1995),76
3. Scherwin,J.E,Liver function,Clinical Chemistry Theory ,Analysis,Correlation,4th ed.Kaplan,L.A,Pesce,A.J,Kaz-mierc-zaks,S.C,(Mosby Inc.eds. St louis USA),(2003),492 and appendix.
4. Ward,M.K, Cockayne, S.,Enzymology,Clinical Chemistry:Concepts and Application,Anderson , S.C,Cockayne,S(W.B Saunders eds.Philadelphia USA) , (1993),238
5. Bergmeyer,H.U,Horde,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),24,497.
6. Vassault,A., et al,Protocole de validation de techniques(document b,stage 3)Ann.Biol.Clin.(1986),44,686.
7. Vassault,A., et al,Analyses de biologie medicale,specifications et normes d'acceptabilite a l'usage de la validation des techniques,Ann.Biol.Clin.(1999),57,685
8. Young, D.S., Effects of preanalytical variables on clinical laboratory tests 2 nd edition,AACC press(1997).
9. Young, D.S., Effects of drugs on clinical laboratory tests 4th edition,AACC press(1995).



Caution, refer to accompanying documents. Beraberindeki dokümanları inceleyiniz.



Biological risk. Biyolojik risk



Consult instructions for use. Kullanım için prospektüsü okuyun.



Do not dispose of in environment. Çevreyi kirlilemeyin çöpe atınız.



Manufacturer / Üretici
BİLİMSEL TIBBİ ÜRÜNLER PAZ.SAN.VE TİC.LTD.ŞTİ

Rev.Tarih / No: 30.08.2023 / 12

BİLİMSEL TIBBİ ÜRÜNLER PAZARLAMA SANAYİ VE TİCARET LİMİTED ŞİRKETİ

9 Eylül Mah. 312/1 Sokak No:12 Gaziemir - İZMİR - TÜRKİYE • Tel.:+90.232. 262 60 83 • Fax:+90.232. 250 61 23

www.btproducts.com.tr - www.bilimseltip.com

REF	CONT	REF	CONT	REF	CONT
GOT-11100	2x40mL+2x10mL	GOT-11228M	4x45mL+2x24mL	GOT-11100A2	4x20mL+2x10mL
GOT-11250	5x40mL+1x50mL	GOT-11228P	4x45mL+2x24mL		
GOT-11500	5x80mL+1x100mL	GOT-11300M2	6x40mL+3x20mL		
GOT-11160A	4x32mL+4x8mL	GOT-11200M3	4x40mL+2x20mL		

⚠ : 2-8 °C



Assay Type : Kinetic
 Reaction Direction : Decreasing
 Temperature : 37°C
 Optical path : 1 cm

INTENDED USE

For the quantitative determination of Aspartate Aminotransferase (AST) in human serum.

METHODOLOGY

Karmen developed a kinetic assay procedure in 1955 which was based upon the use of malate dehydrogenase and NADH. Optimized procedures were presented by Henry in 1960 and Amador and Wacker in 1962. These modifications increased accuracy and lowered the effect of interfering substances. The IFCC published a recommended method that included P-5-P in 1978. The present method is based on IFCC recommendations but does not contain P-5-P since most specimens contain adequate amounts of this cofactor for full recovery of AST activity.

Principle

L-Aspartate + α-Ketoglutarate $\xrightarrow{\text{AST}}$ Oxalacetate + L-Glutamate

Oxalacetate + NADH + H⁺ $\xrightarrow{\text{MDH}}$ L-Malate + NAD⁺ + H₂O

Aspartate aminotransferase (AST) catalyzes the transfer of the amino group from L-aspartate to α-Ketoglutarate to yield oxalacetate and L-glutamate. The oxalacetate undergoes reduction with simultaneous oxidation of NADH to NAD in the malate dehydrogenase (MDH) catalyzed indicator reaction. The resulting rate of decrease in absorbance at 340nm is directly proportional to the AST activity. Lactate dehydrogenase (LDH) is added to prevent interference from endogenous pyruvate which is normally present in serum.

REAGENT COMPOSITION

Active Ingredients

Concentrations

Reagent 1

Tris Buffer	100 mM
L-Aspartic acid	330 mM
Malate dehydrogenase (MDH)	>1000 U/L
LDH (microbial)	>2000 U/L
pH 7.8 ± 0.1	

Reagent 2

NADH	1,1 mM
α-Ketoglutaric acid	78 mM
Sodium azide	0.01 %
pH 10.0 ± 0.1	

REAGENT PREPARATION

Prepare working reagent by mixing 4parts of R1 reagent with 1 part R2 reagent.(e.g. 200 µL R1 with 50 µL R2 reagent.)

REAGENT STORAGE

1. Store reagents at 2-8°C.
2. Working reagent is stable for 5 days at 20-25°C and for two weeks when refrigerated (2-8°C).

REAGENT DETERIORATION

Do not use reagent if:

1. The initial absorbance at 340nm is below 1,0.
2. The reagent fails to meet stated parameters of performance.

PRECAUTIONS

1. This reagent set is for *in vitro* diagnostic use only.

REAGENT 1:

The R1 reagent contains sodium azide and Sodium Hydroxide .

H315 Causes skin irritation

H319 Causes serious eye irritation

P302+352: IF ON SKIN: Wash with soap and water

P305+P351+P338 IF IN EYES: Rinse continuously with water for several minutes .Remove contact lenses if present and easy to do. Continue rinsing.

Wear suitable gloves and eye/face protection.

SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

1. Non-hemolyzed serum is recommended. Red cells contain AST which can give falsely elevated results.
2. AST in serum is reported stable for 28 days when refrigerated (2-8°C), at least one year when frozen (-20°C), and 24 hour when stored at room temperature (15-30°C).

INTERFERENCES

Bilirubin: No interference up to 40 mg/dL.

Hemoglobin: No interference up to 500 mg/dL.

Lipemia: No interference in the presence of triglycerides up to 1500 mg/dL.

Ascorbic acid: No interference up to 25 mg/dL.

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

1. Accurate pipetting devices.
2. Test tubes/rack.
3. Timer.
4. Spectrophotometer able to read at 340 nm. (UV)
5. Heating bath/block (37°C).

PROCEDURE

Wavelength : 340 nm

1. Bring to room temperature (15 -30 °C)
2. Set the photometer to 0 (zero) with distilled water.

	Sample
Reagent 1	800 µL
Reagent 2	200 µL
Sample	100 µL

3. Mix and incubate 37 °C
4. After 60 sec. read and record the absorbance
5. Return tube to 37 °C.
6. Repeat the absorbance reading exactly after 1,2 and 3 minutes.
7. Calculate the average absorbance difference per minute. (ΔAbs/Min.) The ΔAbs/Min multiplied by the factor 1746 will yield results in U/L.

Procedure Notes

1. If the spectrophotometer being used is equipped with a temperature-controlled cuvette, the reaction mixture may be left in the cuvette while the absorbance readings are taken.
2. Turbid or highly icteric samples may give readings whose initial absorbance exceeds the capabilities of the spectrophotometer. More accurate results may be obtained by using 50 µL of sample and multiplying the final answer by two.

LIMITATIONS

1. Samples with values above 500 U/L should be diluted 1:1 with saline, re-assayed and the results multiplied by two.
2. Patients with severe vitamin B6 deficiency could have a decreased recovery of AST, presumably due to a lack of pyridoxal phosphate.

CALIBRATION

The procedure is standardized by means of the millimolar absorptivity of NADH taken as 6,22 at 340nm under the test conditions described.

CALCULATION

One international Unit (U/L) is defined as the amount of enzyme that catalyzes the transformation of one micromole of substrate per minute under specified conditions.
 AST (U/L) = ΔAbs./min. x 1746

QUALITY CONTROL

The validity of the reaction should be monitored using control sera with known normal and abnormal AST values.

EXPECTED VALUES

< 40 U/L (37°C)

It is recommended that each laboratory establish its own reference range.

PERFORMANCE

Sensitivity/ Limit of Detection (LOD):

The lower limit of detection is 1,95 U/L.

Linearity, Measuring Range:

When the recommendation is designed and studied, the test is linear up to 500 U/L. Samples exceeding this value are diluted 1+1 with NaCl (9 g/L) and the result is multiplied by 2.

Precision:

	Within run (n=20)	Between run (n=20)		
Mean (U/L)	43,7	43,8	138,9	139,0
SD	0,51	0,49	1,38	1,03
CV(%)	1,16	1,12	1,00	0,74

Accuracy (Method Comparison) :

Results obtained BTPRODUCTS Reagents (y), did not show systematic differences when compared with other commercial reagents(x).The results obtained using 40 samples were the following:

Correlation Coefficient (r) =0,9979

Regression equation y=1,023x +0,4036 (Two reagents procedure)

The results of the performance characteristics depend on the analyzer used.

REFERENCES

1. Henderson, A.R. Moss, D.W. Enzymes, Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry 5th Ed. Burtis, C.A & Ashwood, E.R. (W.B Saunders eds. Philadelphia USA) (2001), 352
2. Tietz, N.W., Clinical Guide to Laboratory tests. 3 rd Ed. (W.B. Saunders eds. Philadelphia USA (1995), 76
3. Scherwin, J.E. Liver function, Clinical Chemistry Theory , Analysis, Correlation, 4th ed. Kaplan, L.A, Pesce, A.J, Kaz-micro-zaks, S.C, (Mosby Inc.eds. St Louis USA), (2003), 492 and appendix.
4. Ward, M.K. Cockayne, S., Enzymology, Clinical Chemistry, Concepts and Application, Anderson , S.C, Cockayne, S. (W.B Saunders eds. Philadelphia USA) , (1993), 238
5. Bergmeyer, H.U, Horder, 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. Biochem. (1986), 24, 497.
6. Vassault, A., et al, Protocole de validation de techniques (document b, stade 3) Ann. Biol. Clin. (1986), 44, 686.
7. Vassault, A., et al, Analyses de biologie medicale: specifications et normes d'acceptabilite a l'usage de la validation des techniques. Ann. Biol. Clin. (1999), 57, 685
8. Young, D.S., Effects of preanalytical variables on clinical laboratory tests 2 nd edition, AACCC press (1997).
9. Young, D.S., Effects of drugs on clinical laboratory tests 4th edition, AACCC press (1995).



Caution, refer to accompanying documents.
 Beraberindeki dokümanları inceleyiniz.



Consult instructions for use.
 Kullanım için prospektüsü okuyun.



Do not dispose of in environment.
 Çevreyi kirlilemeyin çöpe atınız.

Manufacturer / Üretici
 BİLİMSEL TIBBİ ÜRÜNLER PAZ.SAN.VE TİC.LTD.ŞTİ

Rev.Tarih / No: 30.08.2023 / 12

BİLİMSEL TIBBİ ÜRÜNLER PAZARLAMA SANAYİ VE TİCARET LİMİTED ŞİRKETİ

9 Eylül Mah. 312/1 Sokak No:12 Gazimир - İZMİR - TÜRKİYE • Tel.:+90.232. 262 60 83 • Fax:+90.232. 250 61 23
 www.btproducts.com.tr - www.bilimseltip.com