

Best. Nr. GOT 442
Inhalt: 40 Tests

Zusätzlich erforderlich:
 Minizentrifuge (Best. Nr.: DZ 002)
 37°C-Thermostat (Best. Nr.: DZ 003)

Methode
 UV-Test, IFCC 37°C^{1,2)}, modifiziert,
 ohne Pyridoxalphosphat-Aktivierung
 Arbeitsgang mit Probenstart

Probenmaterial
 Serum, Heparin- oder EDTA-Plasma
 Aktivitätsabfall im Serum
 bei +2°C bis +8°C: nach 3 Tagen ca. 10 %
 bei +20°C bis +25°C: nach 3 Tagen ca. 17 %
 Hämolyse stört

Reagenzien
Inhalt / Konzentrationen:

1. Startreagenz (Kappen in der PE-Flasche)
 NADH > 0,18 mmol/L, α-Ketoglutarat 13,3 mmol/L
2. Enzym-Substrat-Lösung
 (vorportioniert in Rundküvetten)
 Lactatdehydrogenase (LDH) aus Schweinemuskel > 0,9 kU/L,
 Malatdehydrogenase (MDH) aus Schweineherz > 0,6 kU/L,
 L-Aspartat 240 mmol/L, Natriumazid < 0,1 %, TRIS-Puffer
 pH 7,65 (37°C) 80 mmol/L

Sicherheitshinweis
 Die Pufferlösung (Rundküvette) enthält Natriumazid
 (< 0,1 %). Verschlucken, Berührung mit der Haut und
 Schleimhäuten vermeiden. Ein Sicherheitsdatenblatt wird
 auf Anforderung zur Verfügung gestellt.³⁾

Lagerung und Haltbarkeit
 Die Reagenzien sind bei +2°C bis +8°C bis zu dem auf der
 Packung angegebenen Verfalldatum haltbar.
 Schraubkappen erst unmittelbar vor der Messung aus dem
 Behälter entnehmen.

Messbedingungen
Messgerät: Vario Photometer II
Messwellenlänge: 365 nm
Temperatur: 37°C

Messbereich
 10 - 500 U/L
 Bei höheren Werten Serum/Plasma 1+10 mit
 physiologischer NaCl-Lösung verdünnen. Zu 1,0 mL NaCl-
 Lösung 0,1 mL Serum pipettieren, mischen und
 Bestimmung mit 50 µL dieser Verdünnung wiederholen.
 Ergebnis x 11.
 Hochaktive Seren können eine erniedrigte Anfangs-
 extinktionen zeigen, wenn das NADH bereits zu Beginn der
 Reaktion größtenteils verbraucht ist. (Anzeige: E1 zu tief).
 In diesem Fall Probe wie oben angegeben verdünnen.

Vorbereitung
 Der 37°C-Thermostat muss mindestens 20 Minuten vor der
 Messung eingeschaltet werden.

Arbeitsanleitung
 Es können bis zu sechs Proben gleichzeitig gemessen
 werden.

- GOT 442 Küvetten 7 Min. bei 37°C temperieren.
- 50 µL Serum/Plasma mit end-to-end Kapillare in Küvetten
 GOT 442 einbringen, *noch nicht mischen!*
- Kappe aus der PE-Flasche auf die Küvetten
 aufschrauben und den Inhalt der Kappen durch
 mehrmaliges Kippen lösen, kräftig mischen. Gleichzeitig
 soll sich dabei auch die Probe aus der Kapillare lösen.
- Küvetten in den 37°C-Thermostaten zurückstellen.
- Test <GOT> anwählen, Messung starten.
- Der Bedienerführung im Display folgen.
- Nach beendeter Messung die Ergebnisse in (U/L) mit
 rechter Pfeiltaste abfragen.

Berechnung
 Es wird die Aktivität (U/L) der GOT im Plasma berechnet.

$$\text{GOT (37°C)} = F \times \Delta E - 3,2$$

F = Kalibrationskonstante
 Die Berechnungsformel ist im Vario Photometer II
 gespeichert.

Umrechnung in µkat/L: U/L x 0,0167 = µkat/L
 Umrechnung in U/L (25°C):
 U/L (37°C) x 0,48 = U/L (25°C)

Qualitätssicherung
 Für die Qualitätssicherung empfehlen wir die Universal
 Kontrollseren der Firma Roche, www.roche.de:
 PreciControl ClinChem Multi 1 / Multi 2 (4 x 5 mL)
 Order-No.: 05 947 626 190 / 05 947 774 190
 Ref.: Roche / Hitachi analyzers,
 Method: IFCC without pyridoxal phosphate

Referenzwerte⁴⁾ für Serum / Plasma

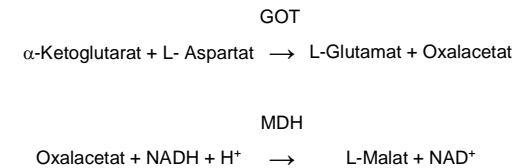
	U/L 37°C	µkat/L 37°C
Männer	bis 35	bis 0,59
Frauen	bis 31	bis 0,52

Zusammenfassung^{1,2)}
 Die Glutamat-Oxalacetat-Transaminase, GOT (neuerer
 Nomenklatur: Aspartat-Aminotransferase, AST) gehört zu
 den Transaminasen, einer Gruppe von Enzymen, die
 besonders reichlich in der Leber, im Herzmuskel und in der
 Skelettmuskulatur vorkommen und bei Schädigung dieser
 Organe an das Blut abgegeben werden.

Indikationen / Diagnostische Bedeutung:
 Diagnostik und Verlaufskontrolle von
 - Erkrankungen der Leber und Gallenwege
 - Skelettmuskelerkrankungen
 - Herzinfarkt

Die GOT und GPT sind sensible Indikatoren für
 Lebererkrankungen. Nach einem Myokardinfarkt nimmt die
 GOT-Aktivität im Serum zu und erreicht nach 2 Tagen ihren
 höchsten Wert. Zur Bestimmung der GOT wurde in
 Deutschland bislang die optimierte Standardmethode der
 Deutschen Gesellschaft für klinische Chemie (DGKC)
 eingesetzt. Diese Methode ist inzwischen durch die IFCC-
 Methode 37°C ersetzt worden.

Messprinzip^{2,4)}
 α-Ketoglutarat wird mit L-Aspartat unter Katalyse mit GOT
 zu L-Glutamat und Oxalacetat umgesetzt. In der
 nachfolgenden, durch MDH katalysierten Reduktion von
 Oxalacetat zur L-Malat wird NADH zu NAD⁺ oxidiert.



Der Verbrauch von NADH wird bei 365 nm gemessen. Die
 Extinktionsabnahme ist der GOT-Aktivität im Serum /
 Plasma proportional.

Leistungsmerkmale
Spezifität / Interferenzen
 Hämolyse stört, da GOT aus den Erythrocyten in Freiheit
 gesetzt wird. Keine wesentliche Beeinflussung durch
 Bilirubin und Lipämie. Bei sehr starker Lipämie kann eine zu
 hohe Anfangsextinktion resultieren. In diesem Falle Probe 1
 + 1 oder 1 + 4 verdünnen.
 Die Bestimmung wird ohne Zusatz von Pyridoxal-phosphat
 durchgeführt, dadurch können die GOT-Werte von Proben,
 die einen Vitamin B6-Mangel aufweisen, zu niedrig
 ausfallen.

Unpräzision
 Die Reproduzierbarkeit wurde mit Human- und
 Kontrollproben überprüft.

In der Serie [n = 18]	Mittelwert [U/L]	Standard- Abweichung [U/L]	VK [%]
Probe 1 Probe 2	42,2 146	1,8 3,6	4,3 2,5
Von Tag zu Tag [n = 18]	Mittelwert [U/L]	Standard- Abweichung [U/L]	VK [%]
Probe 1 Probe 2	42,3 149	2,2 6,5	5,1 4,3

Analytische Sensitivität
 Untere Nachweisgrenze: 10 U/L (0,16 µkat/L)

Methodenvergleich
 Ein Vergleich des Diaglobal-Tests GOT 442 (x) mit einem
 anderen kommerziell erhältlichen Test (y) ergab nach dem
 Verfahren von Passing/Bablok⁵⁾ die Korrelation:
 $y = 1,013x + 2,285$
 $r = 0,997$

n = 24
 Konzentrationsbereich: 15 - 500 U/L

Literatur

1. Thomas L. Labor und Diagnose. 4th edition. Marburg: Die
 Medizinische Verlagsgesellschaft 1995: 120
2. International Federation of Clinical Chemistry, Scientific
 Committee. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1977; 15: 39-51
3. http://www.diaglobal.de/de/service/downloads/index.html
4. Schumann G et al. Clin Chem Lab Med 2002 ; 40 :725-733
5. Passing H, Bablok W. A new biometric procedure for testing the
 equality of measurements from two different analytical methods.
 J Clin Chem Clin Biochem. 1983; 21:709-720

Order No. GOT 442
Content: 40 tests

Additionally required:
 Mini centrifuge (Order. no. DZ 002)
 Dry block heater (Order. no. DZ 003)

Method
 UV test, IFCC 37°C^{1,2}, modified,
 without pyridoxal phosphate activation,
 working process with sample start

Sample material
 Serum, heparin or EDTA plasma
 activity diminution in serum
 at +2°C to +8°C: after 3 days ca. 10 %
 at +20°C to +25°C: after 3 days ca. 17 %
 Haemolysis disturbs.

Reagents
 Content / concentrations:
 1. Starter reagent (caps in PE-bottle)
 NADH > 0.18 mmol/L, α-ketoglutarate 13.3 mmol/L
 2. Enzyme substrate solution
 (pre-portioned in round cuvettes)
 Lactate dehydrogenase (LDH) from pig muscle > 0.9 kU/L, Malate
 dehydrogenase (MDH) from pig heart > 0.6 kU/L,
 L-aspartate 240 mmol/L, Sodium azide < 0.1 %, TRIS buffer
 pH 7.65 (37°C) 80 mmol/L

Safety information
 The buffer solution (round cuvette) contains sodium azide
 (<0.1 %). Do not swallow and avoid contact with skin and
 mucous membranes. If desired a safety data sheet will be
 provided.³⁾

Storage and shelf life
 Reagents can be kept at a temperature between +2°C and
 +8°C until the expiry date indicated on the packaging.

Measurement conditions
 Measurement device: Vario Photmeter II
 Meas. wavelength: 365nm
 Temperature: 37°C

Measurement range
 10 - 500 U/L
 Should values exceed this range, dilute serum/plasma 1+10
 with physiological NaCl solution. Pipette 0.1 mL serum to
 1.0 mL NaCl solution, mix and repeat the determination with
 50 µL of this dilution. Result x 11.

High activity sera may show a low starting absorption if the
 NADH has already been consumed for the greatest part at
 the beginning of the reaction. (Display: ABS 1 too low). In
 this case, dilute sample as indicated above.

Preparation
 Switch on the dry block heater at least 20 minutes before
 measurement.

Working instructions
 You may measure up to six samples simultaneously.
 • Incubate GOT 442 cuvettes 7 minutes at 37°C.
 • Pipette 50 µL serum/plasma with end-to-end capillary into
 cuvettes GOT 442, *not mixing yet!*
 • Screw caps from the PE bottle onto the cuvettes and
 dissolve the caps' content by inverting several times, mix
 thoroughly. Hereby the sample has to be streamed out of
 the capillary completely.
 • Place back cuvettes into the 37°C thermostat.
 • Select test <GOT>, start measurement.
 • Follow user instructions on display.
 • The results (U/L) are shown on display by pressing the
 right arrow key after the measurements.

Calculation
 The activity (U/L) of GOT in plasma becomes calculated.

$$\text{GOT (37°C)} = F \times \Delta\text{ABS} - 3.2$$

F = Calibration constant
 The calculation formula is coded in the Vario Photometer II.

Conversion in µkat/L: U/L x 0.0167 = µkat/L
 Conversion in U/L (25°C):
 U/L (37°C) x 0.48 = U/L (25°C)

Quality assurance
 For quality assurance we recommend universal control sera
 from company Roche, www.roche.de:
 PreciControl ClinChem Multi 1 / Multi 2 (4 x 5 mL)
 Order-No.: 05 947 626 190 / 05 947 774 190
 Ref.: Roche / Hitachi analyzers,
 Method: IFCC without pyridoxal phosphate

Reference values⁴⁾ for serum / plasma

	U/L 37°C	µkat/L 37°C
Men	until 35	until 0.59
Women	until 31	until 0.52

Summary^{1,2)}
 The glutamate oxalacetate transaminase, GOT (new
 nomenclature: aspartyl aminotransferase, AST) belongs to
 the transaminases, a group of enzymes abundantly found in
 particular in liver, myocardium and skeletal muscle and
 transferred into blood in case of any damage of these organs.

Indications / diagnostic significance:
 diagnostics and follow-up of
 - liver and biliary tract diseases
 - skeletal muscle diseases
 - heart attack

GOT and GPT are sensitive indicators for liver diseases.
 After a myocardial infarct the GOT activity in serum increases
 and reaches its highest value after 2 days. In Germany the
 optimised standard method of the German Society for
 Clinical Chemistry (DGKC) has been applied so far for GOT
 determination. By now this method has been replaced by the
 IFCC method 37°C.

Measuring principle^{2,4)}
 Under catalysis with GOT α-ketoglutarate becomes
 converted with L-aspartate into L-glutamate and oxalacetate.
 The following reduction of oxalacetate to L-malate, catalysed
 by MDH, causes NADH to oxidise to NAD⁺.



The NADH consumption is measured at 365 nm. The
 absorption decrease is proportional to the GOT activity in
 serum / plasma.

Performance parameters
Specificity / interferences
 Haemolysis disturbs as GOT is set free out of erythrocytes.
 No significant interference because of bilirubin and
 lipaemia. A very intense lipaemia may cause a too high
 starting extinction. In this case dilute sample 1 + 1 or 1 + 4.
 The determination is conducted without additional pyridoxal
 phosphate. Thus GOT values of samples with vitamin B6
 deficiency may result too low.

Inaccuracy
 The reproducibility was checked using human and control
 samples.

In series [n = 18]	Average [U/L]	Standard deviation [U/L]	VK [%]
Sample 1 Sample 2	42.2 146	1.8 3.6	4.3 2.5
From day to day [n = 18]	Average [U/L]	Standard deviation [U/L]	VK [%]
Sample 1 Sample 2	42.3 149	2.2 6.5	5.1 4.3

Analytic sensitiveness
 Lower detection limit: 10 U/L (0.16 µkat/L)

Comparison of methods
 A comparison of the Diaglobal test GOT 442 (x) and a
 commercially available test (y) resulted in the following
 correlation according to the Passing/Bablok⁵⁾ process:
 $y = 1.013x + 2.285$
 $r = 0.997$

n = 24
 Concentration range: 15 - 500 U/L

Bibliography
 1. Thomas L. Labor und Diagnose. 4th edition. Marburg: Die
 Medizinische Verlagsgesellschaft 1995: 120
 2. International Federation of Clinical Chemistry, Scientific
 Committee. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1977; 15: 39-51
 3. http://www.diaglobal.de/de/service/downloads/index.html
 4. Schumann G et al. Clin Chem Lab Med 2002 ; 40 :725-733
 5. Passing H, Bablok W. A new biometric procedure for testing the
 equality of measurements from two different analytical methods.
 J Clin Chem Clin Biochem. 1983; 21:709-720