

Réactif AST (GOT)

Aspartate Aminotransférase

CARACTÉRISTIQUES DU PRODUIT

Stabilité	:	30 jours entre 2 et 8°C
Limites de linéarité	:	Jusqu'à 450 U/L
Nature de l'échantillon	:	Sérum et Plasma
Méthode	:	Cinétique UV
Préparation du réactif	:	Ajouter le volume spécifié d'eau distillée ou déminéralisée.

IVD

UTILISATION PRÉVUE

Ce réactif est prévu pour la quantification in vitro de l'AST (Aspartate Aminotransférase EC2.6.1.1) dans le sérum ou le plasma humain.

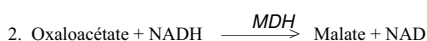
INTERET CLINIQUE

L'AST est largement distribuée à haute concentration dans le coeur, le foie, les muscles squelettiques, les reins et les érythrocytes. Des dommages ou une maladie de ces tissus tels que l'infarctus du myocarde, l'hépatite virale, la nécrose du foie, la cirrhose et la dystrophie musculaire peuvent faire augmenter les niveaux d'AST dans le sérum.¹

PRINCIPE DE LA METHODE

En 1955, Karmen et al² ont décrit le premier dosage cinétique de l'AST à but diagnostique. Cette méthode a été évaluée et améliorée par de nombreux chercheurs, notamment Henry et al³, elle forme à présent la base de nombreuses procédures recommandées au plan national et international. Le réactif à l'AST est basé sur les recommandations de l'IFCC.⁴

La série des réactions impliquées dans le système de dosage est la suivante:



- L'AST présente dans l'échantillon catalyse le transfert du groupe amine du L-aspartate vers le 2-oxoglutarate formant l'oxaloacétate et le L-glutamate.
- L'oxaloacétate, en présence de NADH et de Malate déshydrogénase (MDH) est réduite en L-malate. Dans cette réaction, NADH est oxydé en NAD. La réaction est suivie en mesurant le taux de diminution de l'absorbance à 340 nm due à l'oxydation de NADH en NAD.
- L'ajout de lactate déshydrogénase (LDH) au réactif est nécessaire pour obtenir une réduction rapide et complète de la pyruvate endogène afin qu'elle n'interfère pas dans le dosage.

COMPOSITION DU RÉACTIF

Ingrédients actifs

	Concentration
2-Oxoglutarate	13,2 mmol/L
L-Aspartate	220 mmol/L
MDH (coeur porcine)	> 600 U/L
LDH (microbial)	> 1000 U/L
NADH	> 0,18 mmol/L
Tampon Tris	88 mmol/L
EDTA	5,5 mmol/L

Contient également des compléments et stabilisants inertes.
pH 8,0 ± 0,1 à 20°C.

PRECAUTIONS: Ne pas ingérer. Eviter tout contact avec les yeux. En cas de débordements ou de coulures rincer les surfaces affectées à l'eau. Le réactif contient de l'Azide de sodium et est susceptible de réagir avec le plomb et le cuivre résiduels. Afin d'éliminer toutes traces de réactif, rincer avec de grandes quantités d'eau. La fiche de sécurité sur le réactif du l'AST (GOT) contient des informations plus détaillées. L'emballage de ce produit contient du caoutchouc naturel sec Manipuler avec précaution les sertissages et les fioles en verre cassées, car les bords acérés peuvent blesser l'utilisateur.

R22 Nocif en cas d'ingestion.

S28 Après contact avec la peau, se laver immédiatement et abondamment avec savon et l'eau.

PRÉPARATION DES RÉACTIFS

Reconstituer le réactif en ajoutant le volume d'eau distillée ou désionisée indiqué sur l'étiquette du flacon.

STABILITÉ ET CONSERVATION

Avant utilisation:

Lorsqu'il est conservé réfrigéré à 2-8°C, le réactif est stable jusqu'à la date de

SYMBOLES DE L'ÉTIQUETAGE DU PRODUIT

	Représentant Autorisé		Limites de température
	Utilisation en diagnostique in vitro		Utiliser jusque
	Numéro de lot		ATTENTION: Consulter les instructions d'utilisation
	Référence catalogue		Fabriqué par
	Consulter les instructions d'utilisation		Xn - Nocif

péremption indiquée sur l'étiquette du flacon ou du coffret.

Réactif reconstitué:

Stocké entre 2 et 8°C, le réactif est stable pendant au moins 30 jours.

Indications de la détérioration du réactif:

- Turbidité,
- Absorbance <1,1 à 340 nm (1 cm); et/ou
- Impossibilité d'obtenir les valeurs de contrôle dans leur fourchette de tolérance.

PRELEVEMENT ET MANIPULATION DES ECHANTILLONS:

Sérum: Utilisation de sérum non-hémolysé.

Plasma: utiliser du plasma non hémolysé.

Conservation: Les échantillons d'AST peuvent être stockés pendant au moins 7 jours à 4°C.⁴

MATERIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

- Un analyseur de biochimie capable de maintenir une température constante (37°C) et de mesurer une absorbance à 340 nm.
- Consommables nécessaires au fonctionnement de l'analyseur, par ex.: cupules échantillon.
- Eau distillée ou désionisée pour la préparation du réactif et le matériel requis, par ex.: pipettes.
- Serum de contrôle normal et pathologique.

PROCÉDURE DE DOSAGE

Le paramétrage suivant est recommandé. Des applications selon les analyseurs utilisés sont disponibles sur demande auprès de notre Service Applications.

PARAMETRAGE DU SYSTÈME

Température	37°C
Longueur d'onde	340 nm
Type de dosage	Taux/Cinétique
Sens de la réaction	Diminution
Échantillon: Rapport de volume	1:10
Volume réactif	30 µL
Volume échantillon	300 µL
Délai/Retard	60 secondes
Temps de lecture	60 secondes
Réactif blanc	Basse 1,1 AU
(Chemin lum. 1cm, 340nm)	Haute 2,0 AU
Linéarité	0 - 450 U/L
(voir la section Linéarité)	
Sensibilité	0,57 ΔmA/min par U/L
(chemin lumineux 1cm, 340nm)	

CALCULS

Les résultats sont calculés directement par l'analyseur selon la formule suivante:

Activité en U/L = ΔAbs/min x Facteur

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

Où :

TV = Volume total de la réaction en mL

SV = Volume de l'échantillon en mL

6,3 = Coefficient d'absorption millimolaire du NADH à 340 nm (Voir note 4).

P = Longueur de chemin de cuvette en cm.

Exemple:

ΔAbs/min = 0,10

Facteur = 1746

AST = 0,10 x 1746 = 175 U/L

REMARQUES

1. Les volumes de réactifs et d'échantillon peuvent être modifiés en respectant leur proportionnalité afin de s'adapter aux caractéristiques de chaque analyseur de biochimie.
2. Si l'absorbance est modifiée de plus de 0,26/min, répéter le dosage avec un échantillon plus petit ou diluer avec une solution saline. Se rappeler de régler le facteur pour un volume d'échantillon inférieur ou multiplier le résultat final par le facteur de dilution.
3. La validité des résultats dépend de la précision de l'étalonnage de l'appareil, de la synchronisation et du contrôle de la température.
4. Le coefficient d'absorption millimolaire du NADH à 334 nm = 6,18 et à 365 nm = 3,40.
5. Conversion d'unité : U/L x 16,67 x 10⁻³ = µkat/L

CALIBRAGE

Non requis . Le taux de réaction est converti en U/L d'activité par un facteur de calcul. Voir la section Calcul du présent insert d'emballage.

CONTRÔLE DE QUALITÉ

Afin d'assurer un contrôle de qualité approprié, utiliser un contrôle normal et un contrôle pathologique au moins une fois toutes les huit heures, mais également dans les contextes suivants :

- Au moins toutes les huit heures
- Lorsqu'un nouveau flacon de réactif est utilisé.
- Après une maintenance préventive ou le remplacement d'un des composants fondamentaux de l'analyseur.

Si les résultats de contrôle ne sortent pas dans leur fourchette de tolérance, procéder alors aux actions suivantes:

- Répéter les mêmes contrôles.
- Si les résultats sont encore , en dehors de leur fourchette de tolérance préparer un sérum de contrôle frais et recommencer le test.
- Si les résultats restent hors des limites sur un matériau de contrôle frais, répéter le test avec un réactif neuf.
- Si malgré ces opérations les résultats de contrôle restent en dehors de leur fourchette de tolérance, contactez notre service Applications.

LIMITES DE LA PROCÉDURE :

1. Des études menées pour déterminer le niveau d'interférence entre l'hémoglobine, la bilirubine, la pyruvate et la lipémie, ont donné les résultats suivants:
Hémoglobine: Aucune interférence de l'hémoglobine jusqu'à 920 mg/dL.
Bilirubine: Aucune interférence de la bilirubine jusqu'à 1000 µmol/L (60 mg/dL).
Pyruvate: Aucune interférence de la pyruvate jusqu'à 0,60 mmol/L.
Lipémie : Aucune interférence avec la lipémie, mesurée comme triglycérides, jusqu'à 6,0 mmol/L (530 mg/dL).
2. Ne pas utiliser d'échantillon de sérum hémolysé. Les niveaux d'activité de l'AST dans les globules rouges sont parfois 15 fois supérieurs à ceux des sérums.⁵
3. Young DS⁶ a publié une liste détaillée des médicaments et substances pouvant interférer avec ce dosage.

VALEURS ATTENDUES⁷

A 37°C 5-34 U/L

Des niveaux d'environ deux fois les niveaux de l'adulte ont été vus chez les nouveaux nés et les enfants. Ces niveaux baissent jusqu'aux niveaux adultes normaux après six mois.

Les valeurs indiquées ne représentent que la plage prévue pour cette méthode et ne sont que des indications. Il est recommandé à chaque laboratoire de vérifier sa plage ou de dériver un intervalle de référence pour la population qu'il sert.⁸

MESURES

Les données suivantes ont été obtenues avec le réactif à l'AST(GOT) sur un analyseur de biochimie automatisé bien entretenu. Les utilisateurs doivent établir les performances du produit sur leur propre analyseur.

IMPRÉCISION

Pendant l'opération:	Niveau I	Niveau II
Nombre de mesures	20	20
Moyenne (U/L)	33	169
SD (U/L)	0,44	0,88
CV (%)	1,32	0,52

D'un jour à l'autre:	Niveau I	Niveau II
Nombre de mesures	20	20
Moyenne (U/L)	34	308
SD (U/L)	1,57	8,24
CV (%)	4,69	2,68

COMPARAISON DE MÉTHODES

Des études comparatives ont été menées avec un autre réactif du commerce similaire comme référence. Des échantillons de sérum ont été dosés en parallèle et les résultats comparés par régression du moindre carré. Les statistiques suivantes ont été obtenues.

Nombre d'échantillons en double	50
Plage de mesures des échantillons	7 - 298 U/L
Moyenne des mesures (référence)	48 U/L
Moyenne des résultats de l'AST(GOT)	45 U/L
Pente	0,96
Coordonnées à l'origine	-0,78 U/L
Coefficient de Corrélation	0,997

LINÉARITÉ

Effectué selon les recommandations, le dosage est linéaire jusqu'à 450U/L.


SENSIBILITÉ

Effectué selon les recommandations, ce dosage a une sensibilité de 0,57ΔmA/min par U/L.

RÉFÉRENCES

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



840360 (R0)

REF	Information Commandes	
	No de Catalogue	Configuration
	1180-200	20 x 10 mL
	TR17515	20 x 20 mL
	TR17503/1180-500	10 x 50 mL
	TR17504	10 x 200 mL