

Infinity™

Réactif AST (GOT)**

CARACTÉRISTIQUES DU PRODUIT

Stabilité	: 12 mois entre 2 et 8 °C
Limites de linéarité	: Jusqu'à 450 U/L
Nature de l'échantillon	: Sérum
Méthode	: Cinétique UV
Préparation du réactif	: Ajouter le volume spécifié d'eau distillée ou déminéralisée.

SYMBOLES UTILISÉS

	Mandataire dans la CE		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

UTILISATION PRÉVUE

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

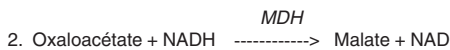
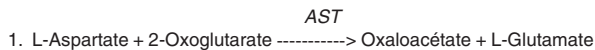
INTERET CLINIQUE

L'AST est largement distribuée à haute concentration dans le cœur, 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 Infinity™ 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 (avant reconstitution)

Ingrédients actifs	Concentration
2-Oxoglutarate	13 mmol/L
L-Aspartate	220 mmol/L
MDH (microbial)	>150 U/L
LDH (microbial)	>1500 U/L
NADH	0,26 mmol/L
Tampon Tris	88 mmol/L
EDTA	5,0 mmol/L

pH 8,10 ± 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 l'AST (GOT) Infinity™ contient des informations plus détaillées.

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

Lorsqu'il est conservé réfrigéré à 2-8°C, le réactif est stable jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du flacon ou du coffret.

Réactif reconstitué

Lorsqu'il est conservé à 2-8°C, dans un récipient bouché, le réactif est stable pour une période minimum de 12 mois ou jusqu'à la date de péremption si elle précède la fin de cette période. Il est recommandé de boucher le réactif et de le stocker entre 2 et 8 °C s'il ne doit pas être utilisé pendant longtemps (p. ex. pour la nuit).

Indications de la détérioration du réactif :

- Turbidité,
- Absorbance <1,0 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.

Conservation: Les échantillons d'AST peuvent être stockés pendant au moins 7 jours à 4 °C.⁵

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.
- Sérum 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 principale	340 nm (334, 365nm)
Longueur d'onde annexe	405 nm
Type de dosage	Taux/Cinétique
Sens de la réaction	Diminution
Échantillon: Rapport de volume	1:10 - 1:20
eg: Volume échantillon	30 µL
Volume réactif	300 µL
Délai/Retard	30 secondes
Temps de lecture	1 à 3 minutes
Réactif blanc	Basse 1,00 AU
(Chemin lum. 1cm, 340nm)	Haute 2,50 AU
Linéarité	450 U/L
(voir la section Linéarité)	
Sensibilité	0,573 ΔmA per 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 = 0,08
 Facteur = 1746
 AST = 0,08 x 1746 = 140 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 utilisée.
- 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. Le réactif contient du LDH pour réduire rapidement la pyruvate endogène de l'échantillon pendant le délai d'incubation initial. Des niveaux anormalement élevés de pyruvate peuvent donner des résultats faussement élevés. (Le niveau normal de pyruvate du sérum est 0,03 à 0,10 mmol/L.⁶).
2. Des études ont été menées pour déterminer le niveau d'interférence de la bilirubine (libre & conjuguée), de l'hémoglobine et de la lipémie, en utilisant des produits de contrôle du commerce. Les résultats suivants ont été obtenus :

Hémoglobine : Aucune interférence de l'hémoglobine jusqu'à 150 mg/dL.
Bilirubine libre: Aucune interférence de la bilirubine libre jusqu'à 260 μmol/L.(15 mg/dL).
Bilirubine conjuguée: Aucune interférence de la bilirubine conjuguée jusqu'à 116 μmol/L (6,8mg/dL)
Lipémie: Aucune interférence avec la lipémie, mesurée à une absorbance à 630 nm, jusqu'à 1,68 AU.

3. Young DS ⁷ a publié une liste détaillée des médicaments et substances pouvant interférer avec ce dosage.

VALEURS ATTENDUES⁸

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.⁹

MESURES

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

IMPRÉCISION

L'imprécision était évaluée avec deux niveaux de contrôle du commerce en respectant la procédure NCCLS EP5-T⁹.

	Niveau	Niveaull
Moyenne (U/L)	45	194
CV (%) Pendant l'opération	1.6	0.7
CV (%) Total	2.7	1.2

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	84
Plage de mesures des échantillons	8 - 276 U/L
Moyenne des mesures (référence)	37 U/L
Moyenne des résultats de l'AST Infinity	38 U/L
Pente	0,98
Coordonnées à l'origine	2,1 U/L
Coefficient de Corrélation	0,997

LINÉARITÉ

Effectué selon les recommandations, le dosage est linéaire jusqu'à 450 U/L avec un rapport SV:RV de 1,20.

La linéarité sur les appareils automatiques dépendra du rapport volume de l'échantillon sur volume de réactif utilisé et du temps des mesures. L'application spécifique à l'appareil doit être consultée.

SENSIBILITÉ

Effectué selon les recommandations, ce dosage a une sensibilité de 0,573 ΔmA/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. Murray RL. "Aspartate aminotransferase" in Clinical Chemistry. Theory, analysis and correlation. Kaplan LA, Pesce AJ (Ed), CV Mosby Company 1984; 1105-8.
6. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. Burtis CA and Ashwood ER (Eds). Second Edition, WB Saunders Company, 1994.
7. Young DS, Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. Third Edition. 1990: 3:45-52.
8. Wachtel M et al, Creation and Verification of Reference Intervals. Laboratory Medicine 1995; 26:593-7.
9. National Committee for Clinical Laboratory Standards. User evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry devices. NCCLS; 1984, NCCLS Publication EP5-T.

©2003 Thermo Electron Corporation. All rights reserved.

 Thermo Electron
 189-199 Browns Road,
 Noble Park, Victoria, 3174
 AUSTRALIA
 Phone: (03) 9790 4100
 Fax: (03) 9790 4155
 Email: sales.clinicalchemistry@thermo.com
 www.thermo.com/clinicalchemistry

Thermo Electron
 331 South 104th Street
 Louisville, CO, 80027
 U.S.A.
 Phone: (800) 558 9115
 Fax: (303) 581 6429

 MediMark Europe Sarl. 11, rue Emile Zola. BP 2322
 F-38033 Grenoble Cedex 2. France
 Phone: +33 (0) 4 76 86 43 22
 Fax: +33 (0) 4 76 17 19 82



REF

Information Commandes et Support Technique

No de Catalogue Configuration

TR70021 2 x 125 mL

	Australia	International	U.S.A
Phone	1800 333 110	61 3 9790 4100	(800) 558 9115
Facsimile	(03) 9790 4155	61 3 9790 4155	(303) 581 6429