

REF 10206-4 4 x 31 ml/ 7 ml

ASPARTATE AMINOTRANSFÉRISE (AST)

Chaque cartouche contient un volume utilisable de 31 ml de réactif R1. Le flacon de 10 ml contient 7 ml de réactif R2.

UTILISATION PRÉVUE

Le réactif AST EasyRA permet de déterminer la quantité d'Aspartate aminotransférase dans le sérum le plasma humains (avec de l'héparine de lithium comme anticoagulant), grâce à « l'analyseur de chimie clinique Medica EasyRA® ». Les mesures d'aspartate aminotransférase permettent le diagnostic et le traitement de certaines maladies du foie et du cœur.

Pour diagnostic *in vitro* uniquement. Réservé à un usage professionnel.

RÉSUMÉ ET EXPLICATION

L'aspartate aminotransférase est une enzyme présente essentiellement dans le foie, le cœur, les globules rouges et les tissus musculaires.¹ Les lésions cellulaires de ces tissus entraînent une augmentation de l'aspartate aminotransférase dans le sérum, proportionnelle à l'importance des lésions. Le taux de l'aspartate aminotransférase est considérablement élevé dans les cas d'hépatite virale, de cirrhose et d'infarctus du myocarde.^{2,3}

PRINCIPE DE LA PROCÉDURE

Le dosage est basé sur une série de réactions décrites ci-dessous. Dans un premier temps, l'ASAT catalyse le transfert de la fonction amine de l'aspartate vers l' α -cétooglutarate, qu'elle transforme en L-glutamate et en oxaloacétate (OAA).

AST

L-Aspartate + α -KG $\rightarrow$ OAA + L-Glutamate

L'OAA est ensuite réduit en L-malate en réagissant avec du NADH à l'aide d'une réaction catalysée par la malate-déshydrogénase (MDH).

MDH

OAA + NADH + H⁺ $\rightarrow$ L-Malate + NAD⁺

Au cours de cette deuxième réaction, la quantité de NADH oxydé en NAD entraîne une diminution de l'absorbance à 340 nm. Cette diminution est mesurée par une méthode spectrophotométrique et est directement proportionnelle à l'activité de l'aspartate aminotransférase dans le sérum. La lactate déshydrogénase (LDH) est incluse dans le réactif pour dégrader rapidement le pyruvate présent dans le sérum, et réduire au minimum l'interférence avec le dosage. La première méthode de dosage, élaborée par Karmen^{4,5} a ensuite été optimisée par Bergmeyer, et al.⁶ La méthodologie d'analyse AST EasyRA est basée sur la méthode recommandée par la Fédération internationale de chimie clinique (IFCC).⁷

RÉACTIFS

Réactif R1 (tampon réagissant à l'AST) :

Tampon TRIS, pH 7,50 (30 °C)	80 mmol/l
L-Aspartate	240 mmol/l
LDH (muscle de lapin)	600 U/l
MDH (muscle de porc)	600 U/l

Réactif R2 (substrat réagissant à l'AST) :

α -cétooglutarate	12 mmol/l
NADH (sel disodique)	0,18 mmol/l

PRÉCAUTIONS

1. Les bonnes pratiques de sécurité en laboratoire doivent être respectées lors de la manipulation des réactifs de laboratoire. (CLSI, GP17-A2).
2. Les réactifs contiennent moins de 0,1 % d'azoture de sodium. Néanmoins, cette substance peut réagir violemment au contact du plomb et du cuivre contenus dans le système de plomberie, et former des azides métalliques explosifs. Consulter la fiche de données de sécurité pour obtenir des informations sur les risques, les dangers et la sécurité.
3. Comme pour toute procédure de test diagnostique, l'interprétation des résultats doit tenir compte des résultats de tous les autres tests ainsi que de l'état clinique du patient.
4. Ne pas utiliser de cuvettes abîmées.

INSTRUCTIONS CONCERNANT LA MANIPULATION, LE STOCKAGE ET LA STABILITÉ DU RÉACTIF

Les réactifs R1 et R2 doivent être placés ensemble dans la cartouche avant utilisation. Les réactifs non ouverts sont stables jusqu'à la date de péremption figurant sur l'étiquette, à condition d'être stockés entre 2 et 8 °C. Le réactif de travail, conservé à bord de l'analyseur EasyRA dans le compartiment réfrigéré du réactif, est stable pendant le nombre de jours programmés dans la puce RFID sur la cartouche de réactif. Ne pas utiliser le réactif s'il est trouble ou nuageux, ou s'il ne parvient pas à retrouver les valeurs de contrôle sérique connues.

PRÉLÈVEMENT DES ÉCHANTILLONS, STOCKAGE/ STABILITÉ

Des tubes enduits d'héparine de lithium peuvent être utilisés pour le prélèvement du plasma. Utiliser des échantillons clairs non hémolysés. L'AST sérique est stable pendant 7 jours entre 2 et 8 °C.

Limites

Éviter l'hémolyse, car la concentration en aspartate aminotransférase dans les globules rouges est environ 10 fois supérieure à celle du sérum.⁹ Des échantillons hémolysés contenant un taux d'hémoglobine ≥ 250 mg/dl peuvent entraîner une augmentation de valeurs de l'aspartate aminotransférase de 6 U/l ou plus.

PROCÉDURE

Matériel fourni

Cartouche / flacon R2 de réactif Medica AST, Réf. 10206

Matériel auxiliaire nécessaire

Medica EasyQC®, Niveau A – Chimie/Électrolytes, Réf. 10793

Medica EasyQC, Niveau B – Chimie/Électrolytes, Réf. 10794

Cartouche de colorant pour test de précision Medica, Réf. 10764

Cartouche de nettoyant Medica – Chimie et électrodes sélectives, Réf. 10660 ou

Cartouche de nettoyant Medica – Chimie, Réf. 10661

Mode d'emploi

Les réactifs R1 et R2 doivent être placés ensemble dans la cartouche avant utilisation. Le réactif R1 est dans la cartouche. Ajouter tout le contenu de la petite bouteille de réactif R2 dans la cartouche. Avant utilisation, bien mélanger le contenu en versant la cartouche. 38 ml de réactif de travail utilisable seront ainsi obtenus. Retirer le bouchon et placer le réactif de travail dans le plateau de l'analyseur chimique Medica EasyRA, situé dans le compartiment approprié de la cartouche. La stabilité du réactif de travail à bord (44 jours maximum) est programmée dans la puce RFID sur la cartouche de réactif.

Remarque : vérifier l'absence de mousse au niveau du collet de la cartouche après avoir retiré le bouchon et placé la cartouche sur l'analyseur. S'il y a de la mousse, procéder à son élimination à l'aide d'un écouvillon ou d'une pipette jetable avant d'effectuer le test.

Étalonnage

Non applicable.

Contrôle de qualité

Il est recommandé d'inclure deux niveaux de contrôle (normal et anormal) à base de sérum quotidiennement lors des tests patient et à chaque changement de numéro de lot de réactifs. Si les résultats du matériel de contrôle du dosage ne correspondent pas à l'intervalle de valeurs attendues, cela peut indiquer la présence d'une dégradation du réactif, d'un mauvais fonctionnement de l'instrument ou d'erreurs survenues au cours de la procédure. Le laboratoire doit respecter les réglementations locales, d'état et fédérales en matière de contrôle de qualité, lorsqu'il en utilise le matériel.

Résultats

Une fois le dosage terminé, l'analyseur EasyRA calcule la concentration en aspartate aminotransférase à partir des modifications de l'absorbance par minute, du volume de l'échantillon, du volume réactionnel total, de la longueur de cheminement (cm) de 0,6 et de l'absorptivité molaire de 6,22.

$$\text{AST (U/l)} = (\Delta A/\text{Min}) \times \frac{(\text{Volume total}(\mu\text{l}) \times 1000)}{(\text{Absorptivité molaire} \times \text{Longueur de cheminement}(\text{cm}) \times \text{Volume de l'échantillon}(\mu\text{l}))}$$

L'activité de l'aspartate aminotransférase, mesurée en U/l, représente la quantité enzymatique responsable de l'oxydation de 1 $\mu\text{mol/l}$ de NADH par minute.

Valeurs attendues¹⁰

L'intervalle des valeurs de référence pour l'aspartate aminotransférase dans le sérum est le suivant :

Norme des valeurs : de 8 à 40 U/l (37 °C)

Ces valeurs sont fournies à titre indicatif. Il est recommandé à chaque laboratoire d'établir son propre intervalle de valeurs attendues, compte tenu des différences qui existent entre les instruments, les laboratoires et les populations locales.

Limites de la procédure (si les valeurs de l'échantillon sont au-dessus de la limite supérieure de l'intervalle, par exemple)

Utiliser uniquement des échantillons non hémolysés. Éviter d'utiliser des échantillons visiblement troubles.

Si les modifications de l'absorbance par minute ($\Delta A/\text{Min}$) sont supérieures à 0,026, correspondant à 400 U/l, l'analyseur le signal par les lettres « SD » (déplétion du substrat). Les modifications de l'absorbance par minute supérieures à cette valeur sont situées en dehors de l'intervalle de linéarité du test. Si l'icône de « répétition » est sélectionnée par l'opérateur, l'échantillon peut être à nouveau testé avec la moitié (1/2) de son volume. Le calcul des résultats issus de la répétition du test prend en compte la diminution de la taille de l'échantillon. Cela aura pour conséquence d'allonger l'intervalle rapporté du dosage de l'aspartate aminotransférase jusqu'à 800 U/l.

CARACTÉRISTIQUES DES PERFORMANCES ¹¹

Intervalle rapporté

L'intervalle rapporté est compris entre 5,5 et 400 U/l. Il est compris entre 5,5 et 800 U/l lorsque la moitié de l'échantillon est utilisée (dilution à 1:1).

Inexactitude / corrélation (CLSI, EP9-A2)

Le tableau suivant regroupe les données obtenues lors d'une comparaison de la performance entre le nouveau réactif AST Medica (y) avec l'analyseur EasyRA et l'ancien réactif AST (x) avec l'analyseur EasyRA. Les données fournies ci-dessous correspondent à des dosages uniques obtenus avec le nouveau réactif AST Medica sur l'analyseur EasyRA versus la moyenne des valeurs d'échantillons déterminés en double et obtenues avec l'ancien réactif AST Medica sur l'analyseur EasyRA.

Nombre d'échantillons	80	Intervalle d'échantillons	10.3 à 389.5U/l
Courbe	1,0203	Intersection avec l'axe des Y	-1,183
Coefficient de corrélation	0.9997	Équation de régression :	$Y = 1,0203X - 1,183$

Le tableau suivant regroupe les données obtenues en comparant des échantillons équivalents de sérum (x) et de plasma (y) à l'aide du réactif AST Medica sur l'analyseur EasyRA. Les données ci-dessous comparent un dosage unique du plasma versus la moyenne des valeurs d'échantillons de sérum déterminées en double.

Nombre d'échantillons	60	Intervalle d'échantillons	de 10,6 à 340.4 U/l
Courbe	0.9902	Intersection avec l'axe des Y	0,3133
Corrélation	0.9988	Équation de régression	$Y = 0,9902 \cdot X + 0,3133$

Imprécision (CLSI, EP5-A2)

Des mesures doubles de chacun des trois niveaux du matériel de contrôle de qualité ont été testées deux fois par jour pendant 20 jours. La précision intra-série et la précision totale ont été déterminées à partir de ces données.

Imprécision intra-série :

Taux du contrôle de qualité U/l	DS intra-série U/l	CV intra-série %
234,9	1,76	0,75
102,8	0,82	0,79
37,8	1,08	2,86

Imprécision totale :

Taux du contrôle de qualité U/l	Imprécision totale DS U/l	Imprécision totale CV %
234,9	1,97	0,84
102,8	1,14	1,11
37,8	1,23	3,25

Linéarité (CLSI, EP6-A)

Linéarité comprise entre 5,5 et 400 U/l, en fonction de la régression linéaire $Y = 0,9975 \cdot X + 0,0049$.

Limite du blanc (LdB) :	3,1 U/l	(CLSI, EP17-A)
Limite de détection (LD) :	4,1 U/l	(CLSI, EP17-A)

Substances interférentes (CLSI, EP7-A)

Une interférence inférieure à 10 % est désignée par « aucune d'interférence significative ».

Il existe une interférence significative liée à l'hémolyse. Éviter l'hémolyse, car la concentration en aspartate aminotransférase dans les globules rouges est environ 10 fois supérieure à celle du sérum.⁹ Ne pas utiliser d'échantillons hémolysés.

Aucune interférence significative n'a été observée pour un taux de bilirubine allant jusqu'à 28 mg/dl.

Aucune interférence significative n'a été observée pour un taux de triglycérides allant jusqu'à 1500 mg/dl (à l'aide du produit Intralipid*).

*Intralipid est une marque déposée de Pharmacia AB à Clayton, Caroline du Nord.

Young fournit une liste de médicaments et autres substances qui interfèrent avec les tests cliniques chimiques.^{12,13}

REFERENCES

- 1 Wilkensen JH. *Principles and Practice for Diagnosis Enzymology*. YearBook Medical Publishers, 1976.
- 2 Kachmar JR: *Enzymes*. In *Fundamentals of Clinical Chemistry*, NW Tietz, Editor, Saunders, Philadelphia 1976, p 674.
- 3 Sacks HJ, Lanchantin GF; *An elevation of serum transaminase in the jaundice state*. Am J Clin Pathol 33:97, 1960.
- 4 Karmen A., Wroblewski E, La Due JS. *J Clin. Invest.* 1955; 34: 126.
- 5 Karmen A., *J. Clin. Invest.* 1955; 34: 131.
- 6 Bergmeyer HU, Scheibe P, Wahlefeld AW. *Clin Chem* 24: 58, 1978.
- 7 Expert Panel of Enzymes of the International Federation of Clinical Chemistry (IFCC): *Part 3 Revised IFCC method for Aspartate Aminotransferase*. *Clin Chem* 24:720 1978.
- 8 IFCC. *Provisional Recommendation on IFCC Methods for the Measurement of Catalytic Concentrations of Enzymes*. Clin Chem 23: 887, 1977.
- 9 Demetriou JA et al. In *Clinical Chemistry – Principles and Technics*, 2nd ed. RJ Henry et al. Eds. Harper & Row, Hagerstown, MD 1974, p 873.
- 10 Tietz NW, ed. *Clinical Guide to Laboratory Tests*, 3rd ed. Philadelphia, PA: WB Saunders; 1995: 76.
- 11 Documentation de Medica.
- 12 Young DS. *Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests*, 2nd ed. Washington, DC. AACC Press; 1997.
- 13 Young DS. *Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests*, 4th ed. Washington, DC: AACC Press; 1995.

Paramètres du dosage (AST) EasyRA

Longueur d'onde (nm)	340/405 nm
Mode réactionnel	Enzyme (0)
Sens réactionnel	Décroissant
Blanc du réactif	Non
Blanc de l'échantillon	Non
Modif. max du premier intervalle de l'absorbance	0,026
Durée de la réaction	7,2 min
Intervalle d'étalonnage (maximum)	N/A
Stabilité du réactif à bord	44 jours

Sérum / Plasma

Volume de l'échantillon (µl)	8
Volume du diluant (µl)	32
Volume du réactif (µl)	144
Emplacements décimaux(par défaut)	1
Unités (valeurs par défaut)	U/l
Facteur de dilution	1:1 (pour augmenter l'intervalle de dosage)
Linéarité	5,5 jusqu'à 400 U/l
Absorptivité molaire	6,22