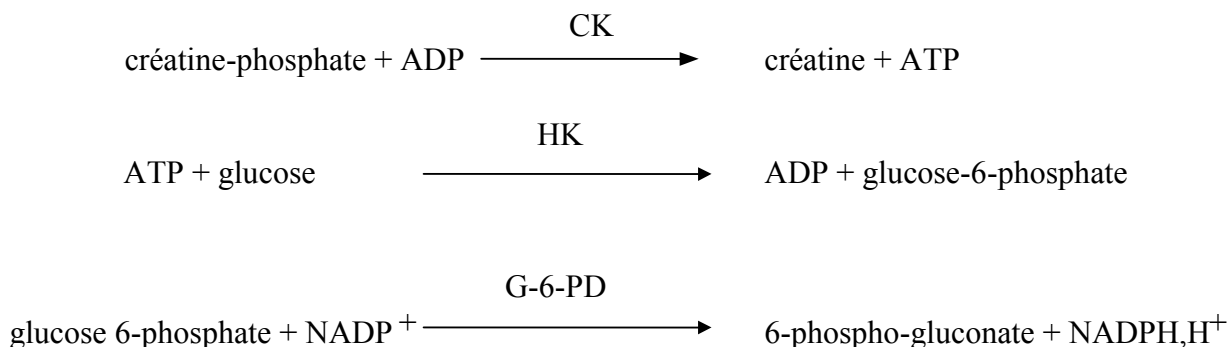


EPREUVE D'EXERCICES D'APPLICATION - Mai 2012

Exercice 2

Enoncé :

L'activité enzymatique de la créatine kinase (CK) dans le sérum est dosée selon le principe réactionnel suivant :



HK : hexokinase ; G-6-PD : glucose-6-phosphate déshydrogénase.

La vitesse de formation du NADPH,H^+ est mesurée à pH 6,50 et à 340 nm (coefficient d'absorbance molaire du NADPH,H^+ = $6300 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$).

Protocole opératoire :

Température : 37 °C.

Introduire dans une cuve en quartz (trajet optique de 1 cm) :

réactif A 2,4 mL

sérum 0,1 mL

Après homogénéisation, le mélange est préincubé 3 min, puis la réaction est déclenchée par :

réactif B 0,5 mL

Après un temps de latence, l'absorbance est lue en continu à 340 nm (pendant 2 minutes).

La variation d'absorbance lue est en valeur absolue de 0,246.

Questions :

- 1) Quels sont les composés présents dans le mélange des réactifs A et B ? Quelles sont les conditions liées à leur concentration ? Justifier le choix de la longueur d'onde et indiquer le sens de la variation de l'absorbance.
- 2) Quelles sont les conditions à respecter concernant la cinétique réactionnelle pour que la mesure soit validée ?
- 3) Calculer la vitesse initiale en mol/L/min dans la cuve réactionnelle.
- 4) En déduire la concentration catalytique (en U/L et en nkat/L) de la CK dans le sérum.
- 5) La méthode est adaptée sur un automate équipé de cuves réactionnelles dont le trajet optique est de 0,6 cm. Calculer le facteur F de multiplication de la variation d'absorbance par 30 s ($\Delta A/30 \text{ s}$), permettant d'obtenir directement la concentration catalytique d'un sérum en U/L (sachant que le facteur de dilution du sérum dans le milieu réactionnel demeure inchangé). Quelle est la valeur du facteur F permettant d'obtenir les résultats en nkat/L ?