

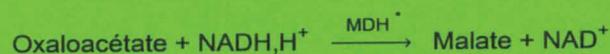
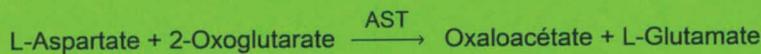
EPREUVE D'EXERCICE D'APPLICATION

Exercice N° 5 (40 points)

Enoncé

La concentration en activité aspartate aminotransférase (ASAT = AST, EC 2.6.1.1) dans le sérum est augmentée dans un certain nombre de situations (hépatites, atteintes hépatobiliaires, infarctus du myocarde, pathologies musculaires, hémolyse, ...).

Pour sa détermination, la méthode recommandée par l'*International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* (IFCC) à 37 °C, à pH 7,65, en présence de phosphate de pyridoxal (PP, cofacteur des aminotransférases), utilise le principe réactionnel suivant (*Clin Chem Lab Med* 2002; 40:725-733) :



* Malate déshydrogénase (MDH, EC 1.1.1.37)

Un étudiant en travaux pratiques utilise cette méthode dans la cuve réactionnelle thermostatée d'un spectrophotomètre, de trajet optique de 1 cm, selon le mode opératoire suivant :

- Introduire 2,00 mL de réactif A
- Equilibrer à 37,0 °C
- Ajouter 200 µL de sérum
- Mélanger et incuber pendant 5 min
- Ajouter 200 µL de réactif B (réactif déclenchant)
- Mélanger et lire les absorbances à 340 nm toutes les 30 s pendant 6 min.

Les résultats obtenus sont les suivants :

Temps (s)	Absorbance à 340 nm
30	1,205
60	1,126
90	1,018
120	0,911
150	0,802
180	0,694
210	0,586
240	0,479
270	0,370
300	0,262
330	0,172
360	0,102

EPREUVE D'EXERCICE D'APPLICATION

Exercice N° 5 (40 points)

Questions**QUESTION N° 1 :**

Quels sont les composants présents dans le mélange des réactifs A et B ? Préciser leur nature.
Quelles sont les conditions à respecter quant à leurs concentrations ?

QUESTION N° 2 :

Justifier le choix de la longueur d'onde et le sens de la variation d'absorbance observée.

QUESTION N° 3 :

Sachant que le coefficient d'absorbance molaire du NADH, H^+ à 340 nm est de $6300 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$, calculer la concentration en activité AST dans le milieu réactionnel final et dans le sérum, en les exprimant en U/L et en $\mu\text{kat/L}$.

QUESTION N° 4 :

L'étudiant réalise, selon le même protocole, des déterminations d'activité AST pour 2 autres sérums.
Quels sont les facteurs de multiplication respectifs permettant de calculer directement les résultats en U/L et en $\mu\text{kat/L}$ à partir des valeurs de $\Delta A/30 \text{ s}$?

QUESTION N° 5 :

Un laboratoire est équipé d'un automate multiparamétrique de biochimie utilisant des cuves de 0,6 cm de trajet optique.

Le mode opératoire retenu pour doser la concentration en activité AST avec les mêmes réactifs est le suivant :

- Réactif A : 200 μL
- Sérum : 10 μL
- Réactif B : 20 μL .

L'automate calcule la variation d'absorbance moyenne par minute à partir des valeurs d'absorbance correspondant à la phase linéaire de la cinétique réactionnelle. Il rend directement la valeur de la concentration en activité AST des sérums analysés, grâce à un facteur de multiplication programmé au préalable dans le logiciel de l'automate.

Quelle est la valeur de ce facteur pour rendre les résultats directement en U/L ?

Quelle est la valeur de ce facteur pour rendre les résultats directement en $\mu\text{kat/L}$?