



Ce document a été mis en ligne par l'organisme [FormaV®](#)

Toute reproduction, représentation ou diffusion, même partielle, sans autorisation préalable, est strictement interdite.

Pour en savoir plus sur nos formations disponibles, veuillez visiter :

www.formav.co/explorer

B.T.S. ANALYSES DE BIOLOGIE MÉDICALE

E4 – U41 **Bases scientifiques et technologiques** **de la biologie médicale**

Biochimie

SESSION 2019

Durée : 3 heures

Coefficient : 2

Aucun document ou matériel autorisé.

Ce sujet comporte un dossier technique dont la lecture est conseillée avant la rédaction.

Dès que le sujet vous est remis, assurez-vous qu'il est complet.
Le sujet se compose de 14 pages, numérotées de 1/14 à 14/14.

BTS Analyses de Biologie Médicale		Session 2019
E4 – U41 : B.S.T.B.M. (BIOCHIMIE)	19ABE4BC1	Page : 1/14

L'HÉMOCHROMATOSE HÉRÉDITAIRE

Un patient de 45 ans présente les symptômes suivants : asthénie, perte de poids, arthropathie, douleurs abdominales. Son médecin généraliste suspecte un dérèglement du métabolisme du fer dont l'étiologie peut être l'hémochromatose héréditaire (HH).

L'HH est une pathologie liée à une augmentation de l'absorption duodénale du fer ayant pour conséquence son accumulation dans l'organisme. Cette maladie génétique est la plus fréquente en France. Sans traitement elle évolue insidieusement et risque de provoquer des atteintes graves, telles qu'une cirrhose, un diabète, une cardiomyopathie, qui sont susceptibles d'entraîner un décès prématuré.

1. Recherche d'une anomalie du métabolisme du fer (6 points)

1.1. Détermination du coefficient de saturation de la transferrine (CS-Tf)

1.1.1. Identifier et expliquer le principe de la méthode de dosage de la transferrine.

Afin de valider techniquement le dosage de la transferrine, un CIQ haut et un CIQ normal sont utilisés.

1.1.2. Expliquer le rôle de chaque niveau de contrôle.

1.1.3. Exploiter le diagramme de Levey-Jennings selon les règles de Westgard et conclure.

1.1.4. Calculer le CS-Tf du patient.

1.1.5. Analyser le résultat obtenu.

Données :

	Mesures obtenues pour le patient
Fer ($\mu\text{mol.L}^{-1}$)	72,0
Transferrine (g.L^{-1})	4,00

1.2. Dosage de la ferritine plasmatique

1.2.1. Indiquer le rôle de la ferritine.

1.2.2. Réaliser le schéma des étapes du dosage.

1.2.3. Identifier la molécule de la cartouche FER qui présente un danger pour la santé. Expliquer la différence de danger entre les puits 8 et 10.

2. Recherche de la mutation C282Y du gène HFE (10 points)

La mesure du CS-Tf et de la ferritinémie du patient concordent avec une suspicion d'HH. Cette pathologie est généralement liée au gène HFE. C'est une maladie génétique de transmission autosomique récessive.

2.1. Définir « autosomique » et « récessive ».

2.2. Donner les légendes correspondant aux numéros 1 à 4 du **document 4**.

BTS Analyses de Biologie Médicale		Session 2019
E4 – U41 : B.S.T.B.M. (BIOCHIMIE)	19ABE4BC1	Page : 2/14

Le gène HFE code une protéine de 348 acides aminés formant une chaîne α organisée en trois domaines extracellulaires ($\alpha 1$, $\alpha 2$ et $\alpha 3$), un domaine transmembranaire et un court domaine C-terminal intra-cytoplasmique. Le domaine $\alpha 3$ interagit, grâce à des liaisons faibles, avec une $\beta 2$ -microglobuline essentielle à sa fonction.

2.3. Définir la structure tertiaire d'une protéine.

2.4. Donner deux exemples de liaisons faibles susceptibles de permettre l'interaction de la protéine HFE avec la $\beta 2$ -microglobuline.

Une mutation majeure du gène HFE est retrouvée chez plus de 90 % des sujets atteints d'HH. Il s'agit de la mutation C282Y. Elle résulte de la substitution d'un nucléotide au niveau du triplet 282 ayant pour conséquence le remplacement d'une cystéine (C) par une tyrosine (Y). Cette mutation conduit à la rupture d'une liaison covalente essentielle à la structure tertiaire de la protéine HFE.

2.5. Donner la séquence mutée du triplet 282 provoquant la mutation C282Y. Justifier la démarche.

2.6. Nommer la liaison covalente qui est abolie par la mutation C282Y.

Afin de déterminer la présence de la mutation C282Y dans le génotype du patient, le laboratoire de biologie médicale met en œuvre une PCR en temps réel de type Taqman®.

2.7. Indiquer la signification du sigle PCR. Donner l'intérêt de cette technique.

2.8. Présenter la procédure qui, d'après la fiche technique, permet de préparer le Master-Mix afin de réaliser 10 réactions.

2.9. Indiquer ce qui doit être ajouté aux 15 μ L de Master Mix afin de réaliser un essai NTC.

2.10. Décrire le phénomène de dénaturation qui survient lors des étapes du cycle de PCR réalisées à 95°C.

2.11. Présenter les deux rôles de la Taq polymérase.

2.12. Indiquer la zone du graphique des résultats où est attendue la mesure de chacun des essais suivants :

- NTC
- WT-Control
- MUT-Control
- Provenant d'un patient homozygote pour la mutation C282Y

3. Recherche de complications (4 points)

3.1. Dosage des transaminases

3.1.1. Identifier la méthode de dosage de l'ALAT et donner son principe général.

3.1.2. Retrouver, à partir de la composition du réactif de travail, les équations du dosage de l'ALAT.

3.1.3. Justifier le choix de la longueur d'onde de mesure des absorbances.

Le patient souffrant d'HH présente une $b_{(ALAT ; \text{sérum})}$ supérieure aux valeurs de référence.

3.1.4. Interpréter ce résultat.

BTS Analyses de Biologie Médicale		Session 2019
E4 – U41 : B.S.T.B.M. (BIOCHIMIE)	19ABE4BC1	Page : 3/14

3.2. Test d'hyperglycémie provoquée par voie orale (HGPO)

3.2.1. Présenter le protocole de réalisation d'une HGPO.

Le tube primaire de prélèvement sanguin requis pour déterminer la glycémie, renferme du fluorure de sodium et de l'héparinate de lithium.

3.2.2. Citer le rôle respectif de ces additifs.

Le patient atteint d'HH réalise un test d'HGPO qui dépiste un diabète.

3.2.3. Donner les résultats attendus en début et en fin d'analyse.

BTS Analyses de Biologie Médicale		Session 2019
E4 – U41 : B.S.T.B.M. (BIOCHIMIE)	19ABE4BC1	Page : 4/14

DOSSIER TECHNIQUE

Liste des documents

Document 1 : Dosage de la transferrine sérique

Document 2 : Validation technique du dosage de la transferrine sérique

Document 3 : Extraits de la fiche technique bioMérieux pour le dosage de la ferritine
(REF 30411)

Document 4 : Schéma simplifié de la structure du gène HFE

Document 5 : Schéma simplifié de la structure de la protéine HFE

Document 6 : Séquence d'ADN partielle du brin non transcrit de l'allèle HFE non muté

Document 7 : Code génétique

Document 8 : Diagnostic de la mutation C282Y par PCR en temps réel de type Taqman®

Document 9 : Extraits de la fiche technique Biolabo pour le dosage de l'ALAT (REF 80027)

Dosage de la transferrine sérique**Extraits de la fiche technique TRANSFERRINE (TF) de A. MENARINI diagnostics****PRINCIPE**

L'échantillon réagit avec un tampon contenant un anticorps spécifique pour la transferrine humaine (sidérophiline). L'absorbance de la solution turbide résultant est proportionnelle à la concentration de transferrine dans l'échantillon. En dessinant la courbe d'étalonnage à partir de l'absorbance des étalons, la concentration en transferrine de l'échantillon peut être déterminée.

PRELEVEMENT ECHANTILLON ET CONSERVATION ⁽¹⁾

Le sérum doit être conservé entre +2 et +8°C pendant un maximum de 72 heures ou congelé à -20°C pendant maximum 6 mois (ne pas recongeler).

COMPOSITION DES REACTIFS

Contenu	Concentration Initiale des Solutions
R1. Tampon Test	
Polyéthylène Glycol	6% (p/v)
Tampon Tris/HCl	20 mmol/l, pH 7.4
Chlorure de Sodium	150 mmol/l
Azide de Sodium	0.09% (p/v)
R2. Réactif Anticorps	
Anti transferrine (humaine)	
Tampon Tris/HCl	20 mmol/l, pH 7.4
Chlorure de Sodium	150 mmol/l
Azide de Sodium	0.05% (p/v)

MATERIEL FOURNI

Tampon test transferrine
Réactif anticorps transferrine

MATERIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNI

Etalons Protéines A. MENARINI Diagnostics,
(Cat. N° 37488)
Contrôles Protéines A. MENARINI Diagnostics
Niveau 1 Cat. N° 37501
Niveau 2 Cat. N° 37502
Niveau 3 Cat. N° 37503

CONTROLE QUALITE

Les Etalons Protéines, les sérums de contrôle niveaux 1, 2 et 3 A. MENARINI Diagnostics sont recommandés pour le contrôle qualité. Deux niveaux de sérum de contrôle doivent être testés au moins une fois par jour. Les valeurs obtenues doivent être comprises dans la gamme spécifiée. Si ces valeurs se trouvent en-dehors de l'intervalle de confiance et que la répétition exclue une erreur, les opérations suivantes doivent être effectuées:

1. Vérifier les réglages de l'appareil et de la source de lumière.
2. Vérifier la propreté de tout l'équipement utilisé.
3. Vérifier l'eau, les contaminants, par exemple, la croissance des bactéries peut contribuer à fournir des résultats non corrects.
4. Vérifier la température de réaction.
5. Vérifier la date d'expiration du kit et des contenus

Formule de calcul du coefficient de saturation de la transferrine (CS-Tf) :

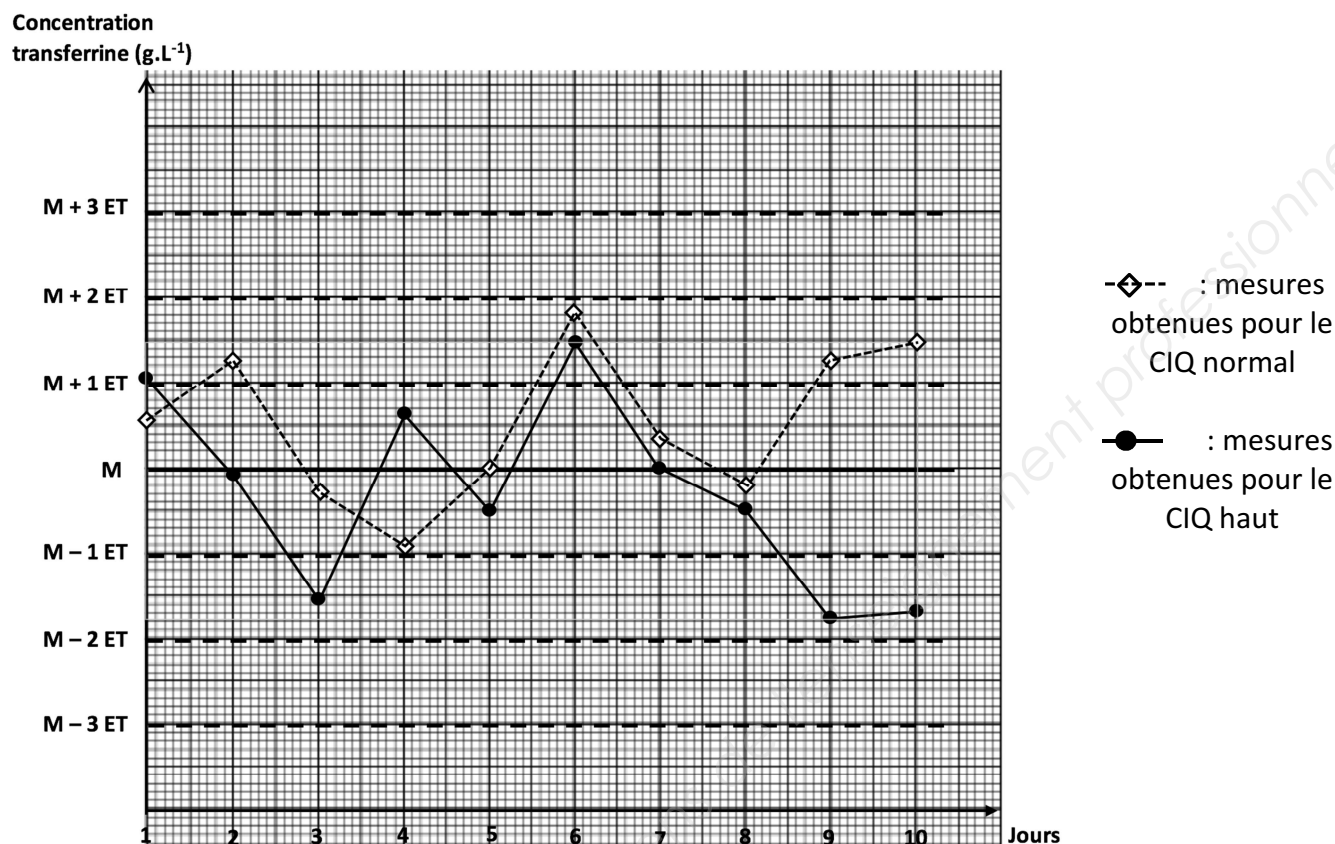
$$\text{CS-Tf (\%)} = \frac{\text{Fer sérique } (\mu\text{mol.L}^{-1})}{\text{Transferrine sérique } (\text{g.L}^{-1}) \times 25} \times 100$$

Valeurs de référence :

	CS-Tf (%)
A la naissance	55 – 65
Nourrisson	10 – 30
Enfant	10 – 30
Homme adulte	20 – 40
Femme adulte	15 – 35

Validation technique du dosage de la transferrine sérique

Diagramme de Levey-Jennings

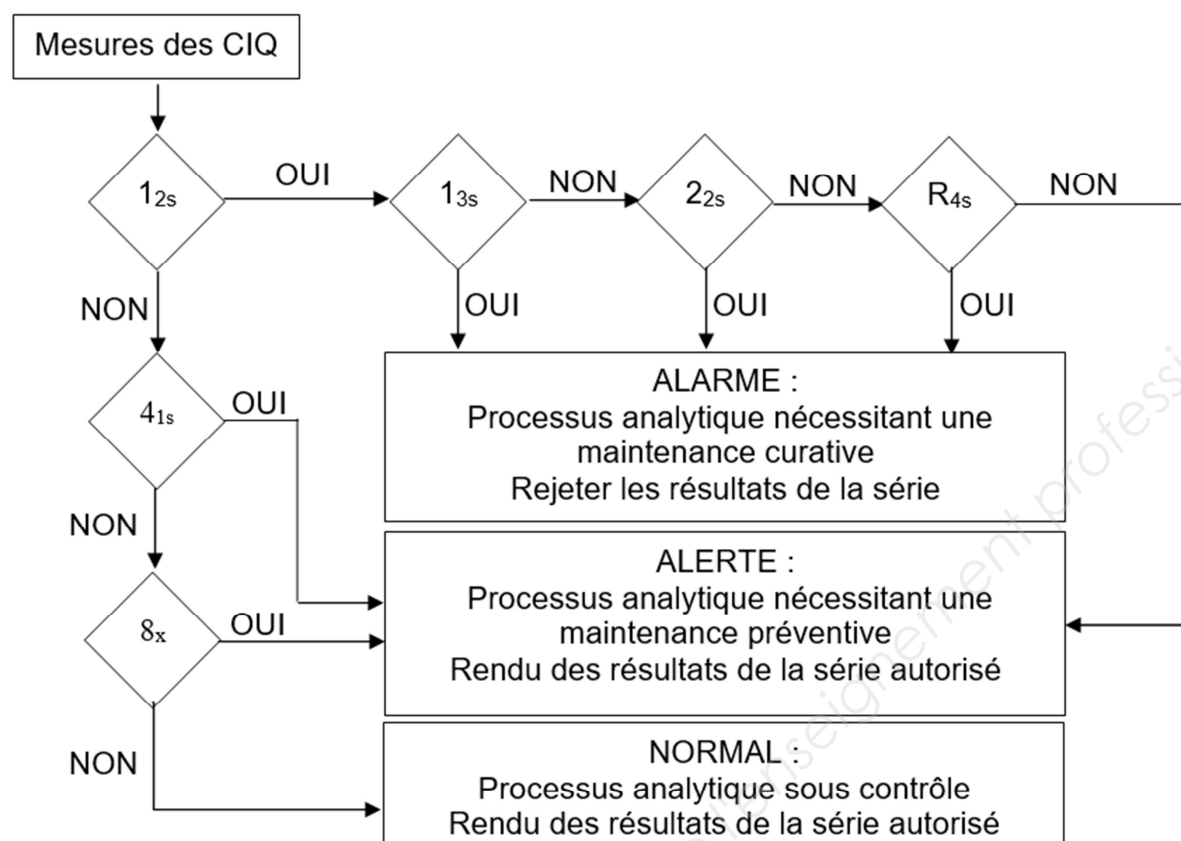


Règles de Westgard à ne pas transgresser

1_{2s}	1 mesure d'un des deux contrôles est au-delà de +2 ET ou de -2 ET
1_{3s}	1 mesure d'un des deux contrôles est au-delà de +3 ET ou de -3 ET
2_{2s}	Inter-série : 2 mesures consécutives d'un des deux contrôles est au-delà de +2 ET ou de -2 ET Intra-série : chaque mesure des deux contrôles est éloignée de +2 ET ou de -2 ET, du même côté de la moyenne
R_{4s}	Inter-série : 2 mesures consécutives d'un des deux contrôles sont éloignées de plus de 4 ET Intra-série : une mesure d'un contrôle est inférieure à -2 ET et la mesure de l'autre contrôle est supérieure à +2 ET
4_{1s}	Inter-série : 4 mesures consécutives d'un des deux contrôles sont au-delà de +1 ET ou de -1 ET, du même côté de la moyenne Intra-série : les 2 niveaux de contrôles ont 2 mesures consécutives du même côté de la moyenne qui sont au-delà de +1 ET ou de -1 ET
8_x	Inter-série : 8 mesures consécutives d'un des deux contrôles sont du même côté de la moyenne Intra-série : les 2 niveaux de contrôles ont 4 mesures consécutives qui sont du même côté de la moyenne

Inter-série : mesures obtenues pour le CIQ normal ou le CIQ haut**Intra-série** : mesures obtenues pour le CIQ normal et le CIQ haut

Logigramme décisionnel



Extraits de la fiche technique bioMérieux pour le dosage de la ferritine (REF 30411)

PRINCIPE

Le principe du dosage associe la méthode immunoenzymatique par sandwich en 1 étape à une détection finale en fluorescence (ELFA).

Le cône à usage unique sert à la fois de phase solide et de système de pipetage. Les autres réactifs de la réaction immunologique sont prêts à l'emploi et pré-répartis dans la cartouche.

Toutes les étapes du test sont réalisées automatiquement par l'instrument. Elles sont constituées d'une succession de cycles d'aspiration/refoulement du milieu réactionnel.

Lors de l'étape finale de révélation, le substrat (4-Méthyl-ombelliferyl phosphate) est aspiré puis refoulé dans le cône ; l'enzyme du conjugué catalyse la réaction d'hydrolyse de ce substrat en un produit (4-Méthyl-ombelliférone) dont la fluorescence émise est mesurée à 450 nm. La valeur du signal de fluorescence est proportionnelle à la concentration de l'antigène présent dans l'échantillon. A la fin du test, les résultats sont calculés automatiquement par l'instrument par rapport à une courbe de calibration mémorisée, puis imprimés.

COMPOSITION DES REACTIFS DU COFFRET (60 TESTS) :

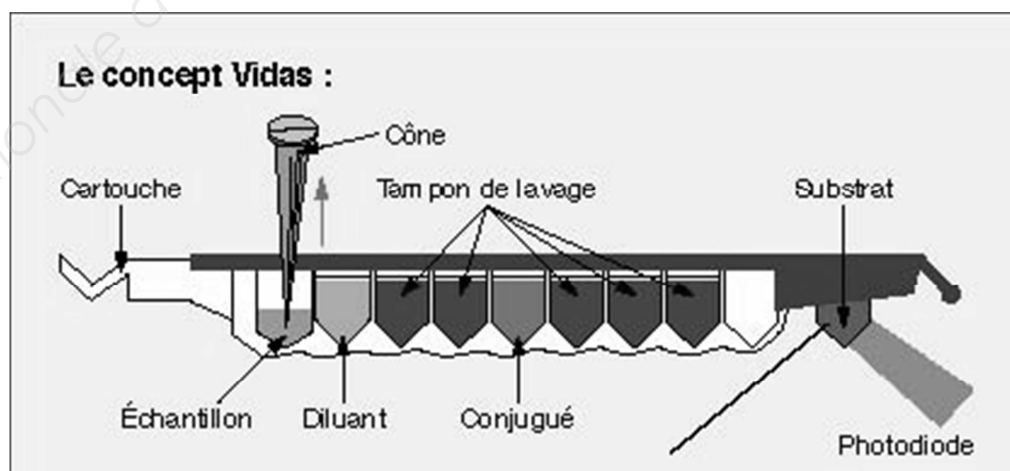
60 cartouches FER	STR	Prêtes à l'emploi.
60 cônes FER 2 x 30	SPR	Prêts à l'emploi. Cônes sensibilisés par des immunoglobulines monoclonales de souris anti-Ferritine.

Description de la cartouche FER

Puits	Réactifs
1	Puits échantillon.
2 - 3 - 4	Puits vides.
5	Conjugué : immunoglobulines monoclonales de souris anti-Ferritine marquées à la phosphatase alcaline + azoture de sodium 1 g/l (600 µl).
6 - 7	Tampon de lavage : phosphate de sodium (0,01 mol/l) pH 7,4 + azoture de sodium 1 g/l (600 µl).
8	Tampon de lavage : diéthanamine* (1,1 mol/l soit 11,5 %, pH 9,8) + azoture de sodium 1 g/l (600 µl).
9	Puits vide.
10	Cuvette de lecture avec substrat : 4-Méthyl-ombelliferyl phosphate (0,6 mmol/l) + diéthanamine (DEA**) (0,62 mol/l soit 6,6%, pH 9,2) + azoture de sodium 1 g/l (300 µl).

DESCRIPTION GÉNÉRIQUE D'UNE CARTOUCHE UTILISÉE PAR L'AUTOMATE VIDAS

http://www.jle.com/en/revues/abc/sommaire.phtml?cle_parution=103



BTS Analyses de Biologie Médicale	Session 2019
E4 – U41 : B.S.T.B.M. (BIOCHIMIE)	Page : 9/14

DOCUMENT 3 (SUITE)

* Mention d'avertissement : **DANGER**



Mention de danger

H318 : Provoque des lésions oculaires graves.

H373 : Risque présumé d'effets graves pour les organes à la suite d'expositions répétées ou d'une exposition prolongée.

H315 : Provoque une irritation cutanée.

H302 : Nocif en cas d'ingestion.

Conseil de prudence

P280 : Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage.

P305 + P351 + P338: EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX: rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer.

P309 + P311 : EN CAS d'exposition ou de malaise: appeler un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin.

** Mention d'avertissement : **DANGER**



Mention de danger

H318 : Provoque des lésions oculaires graves.

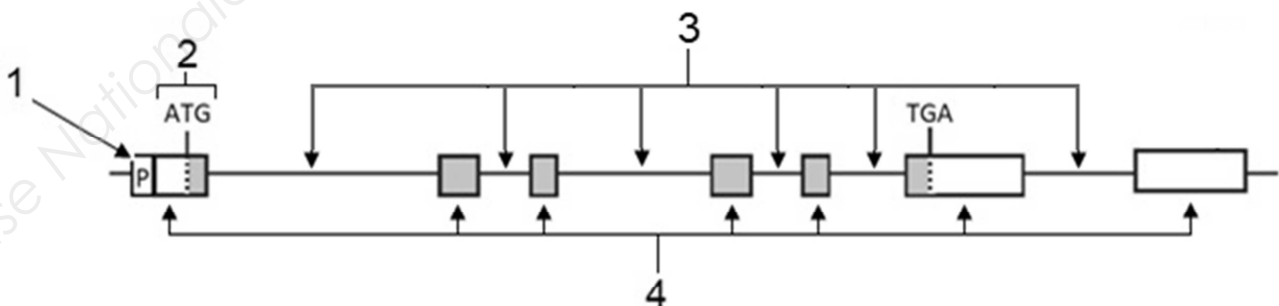
Conseil de prudence

P280 : Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage.

P305 + P351 + P338 : EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX: rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer.

DOCUMENT 4

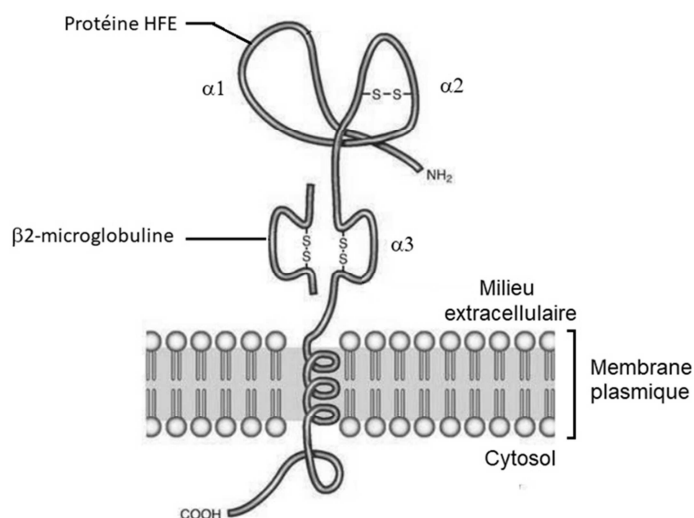
Schéma simplifié de la structure du gène HFE



BTS Analyses de Biologie Médicale		Session 2019
E4 – U41 : B.S.T.B.M. (BIOCHIMIE)	19ABE4BC1	Page : 10/14

DOCUMENT 5

Schéma simplifié de la structure de la protéine HFE



DOCUMENT 6

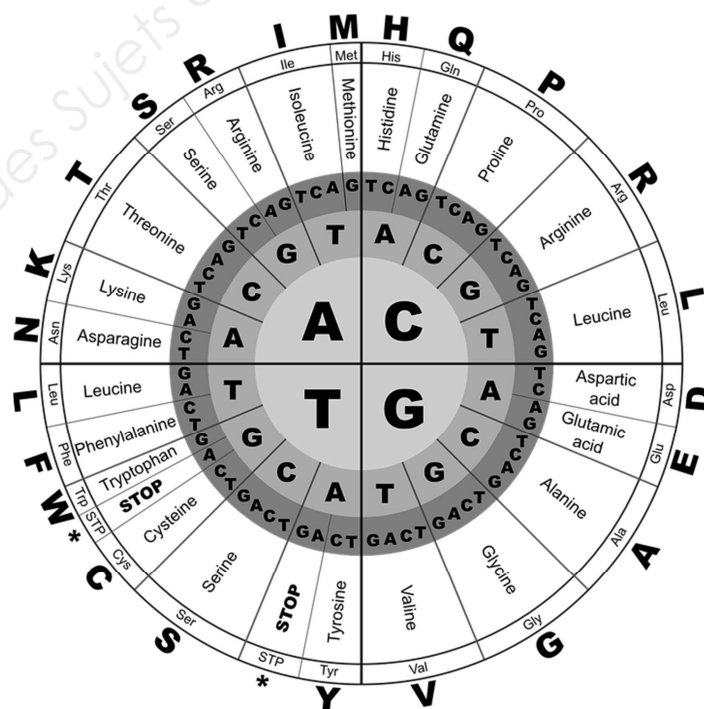
Séquence d'ADN partielle du brin codant de l'allèle HFE non muté

Triplet n°	280	281	282	283	284
Séquence de 5' → 3'	TAT	ACG	TGC	CAG	GTG

DOCUMENT 7

Code génétique

<https://pixabay.com/fr/adn-acides-amin%C3%A9s-la-biologie-code-152135/>



Diagnostic de la mutation C282Y par PCR en temps réel de type Taqman®**Extraits de la fiche technique ViennaLab (HFE C282Y RealFast™ Assay ; REF 7-130)****3. Composants du kit**

RealFast™ 2x Genotyping Mix	1 Vial	☐ couvercle blanc	1000 µl
HFE C282Y Assay Mix	1 Vial	☒ couvercle violet	550 µl
HFE C282Y WT-Control	1 Vial	☒ couvercle vert	75 µl
HFE C282Y MUT-Control	1 Vial	☒ couvercle rouge	75 µl

Le kit comprend des réactifs pour 100 réactions de chacune d'un volume final de 20 µl.

Le RealFast™ 2x Genotyping Mix comprend HotStart Taq DNA polymérase et des dNTPs dans un système tampon optimisé. Le HFE C282Y Assay Mix se compose de primers génospcifiques HFE et de deux sondes d'hydrolyse spécifiques d'allèle munies d'un double marqueur. De plus vous disposez dans le kit des matrices témoins pour le génotype normal (WT-Control) et le génotype homozygote muté (MUT-Control).

5. Description du produit**5.1. Principe du test**

Le test repose sur un test fluorogène à la nucléase 5', connu aussi sous le nom de TaqMan®-Assay. Chaque réaction contient une paire de primers génospcifiques qui amplifie un fragment 144 bp du gène HFE et deux sondes d'hydrolyse allèles-spécifiques, munies d'un marqueur double, qui s'hybride à la séquence cible du fragment amplifié. La proximité directe entre les indicateurs fluorescents 5' et les colorants 3' sur une sonde intacte inhibe la fluorescence. Au cours de la PCR l'activité exonucléase 5' – 3' de la polymérase ADN Taq clive l'indicateur fluorescent 5' de l'échantillon hybridisé. La séparation spatiale du fluorophore du quencher provoque un signal fluorescent en temps réel, qui est proportionnel à la quantité du produit de la PCR.

Dans les échantillons normaux, la **sonde de type sauvage C282Y marquée HEX** s'hybride au brin complémentaire du fragment de gène amplifié. Il en résulte un fort signal fluorescent dans le canal HEX (556nm) et aucun signal ou un moins fort situé sur la ligne de base dans le canal FAM (520nm). Inversement, dans des échantillons mutés homozygotes, la **sonde mutante C282Y marquée FAM** s'hybride au brin complémentaire du fragment de gène amplifié. On peut ainsi détecter un signal fluorescent fort dans le canal FAM et aucun ou un signal plus faible situé sur la ligne de base dans le canal HEX. Pour les échantillons hétérozygotes, les deux sondes se lient aux amplicons et génèrent un signal intermédiaire dans les deux canaux de détection.

7. Procédure**7.1. Extraction de l'ADN**

Les réactifs d'extraction d'ADN **ne sont pas inclus** dans le kit.

7.2. Contrôle de la PCR

Incluez **toujours** un **No Template Control (NTC)** dans chaque test pour contrôler la présence d'éventuelles contaminations.

Effectuez **toujours** le HFE C282Y WT-Control et le HFE C282Y MUT-Control pour chaque test comme signaux de référence pour des échantillons inconnus. Certains logiciels de la PCR en temps réel, comme par ex. AB 7500 Fast, nécessitent pour interpréter correctement les résultats des signaux pour l'ensemble des trois génotypes possibles dans la "Allelic Discrimination Plot". Pour réaliser un contrôle hétérozygote (HET-Control) mélangez une aliquote du WT-Control et du MUT-Control dans un rapport 1:1.

» **Remarque:** les WT- et MUT-Controls représentent des sources de contaminations éventuelles, il faut donc veiller à les manipuler avec le plus grand soin. «

7.3. Préparation du HFE C282Y RealFast™ Master-Mix

Décongelez complètement toutes les solutions, centrifugez-les brièvement après les avoir mélangées avec précaution. La réalisation de la PCR s'effectue à température ambiante. Préparez suffisamment de **Master-Mix** pour le nombre total d'amorces PCR prévues (N échantillons + contrôles positifs + contrôles négatifs) et calculez en plus au moins une réaction supplémentaire pour compenser une imprécision de pipetage:

Composants	Par réaction
RealFast™ 2x Genotyping Mix	10 µl
HFE C282Y Assay Mix	5 µl
Master-Mix	15 µl

Mettez **15 µl** de **Master-Mix** dans chaque godet. Pipetez et ajoutez **5 µl d'ADN** ou de **Control Template** pour obtenir un volume final de 20 µl.

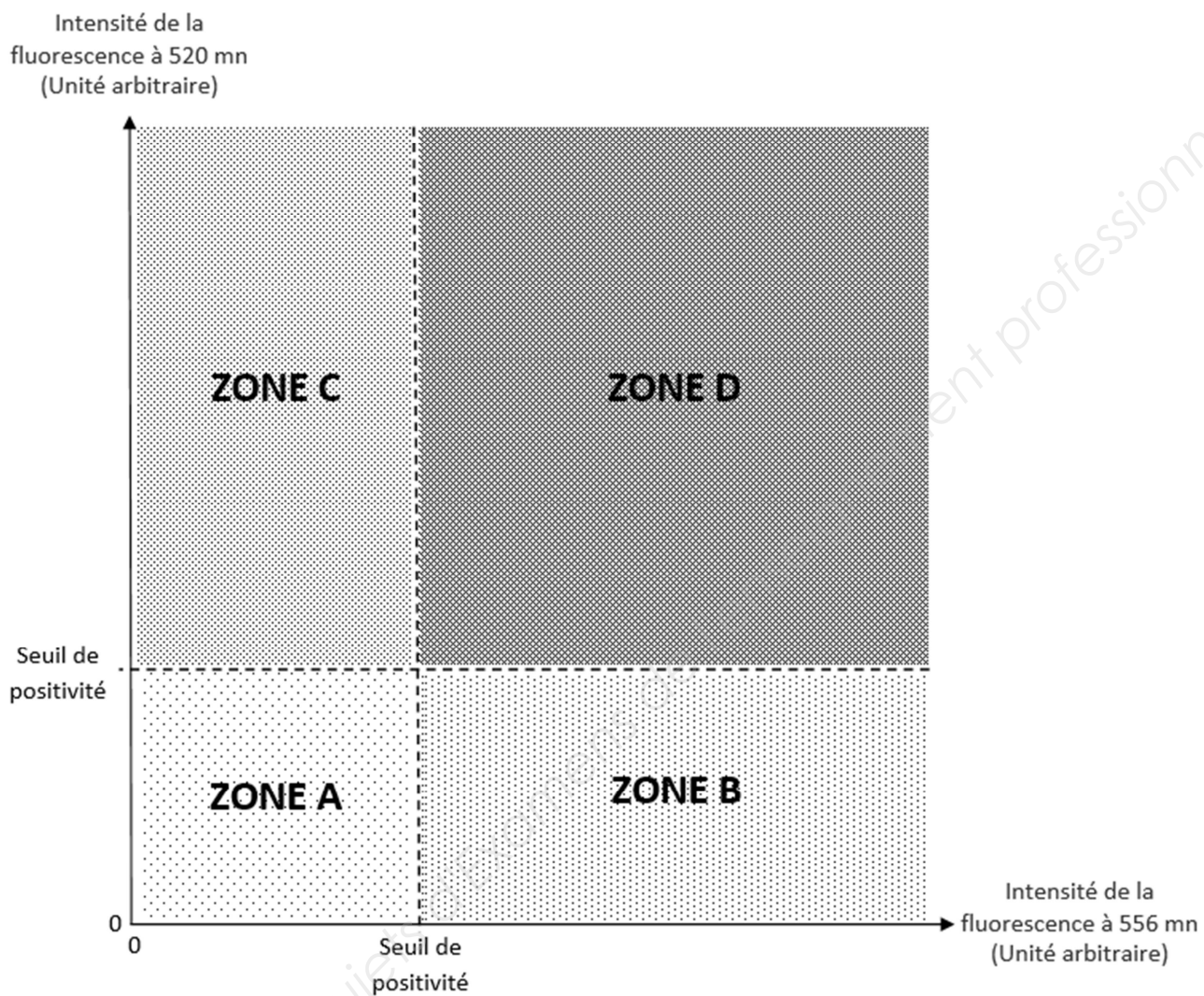
Pour minimiser les risques de contaminations, pipetez les échantillons dans cet ordre: premièrement NTC, ensuite les échantillons, et finalement les contrôles positifs. Fermez immédiatement les récipients de réaction.

7.4. Programme de la PCR

Programmez la machine PCR en temps réel comme indiqué par le fabricant pour les expériences de discrimination allélique ou de génotypage. Mettez les échantillons PCR dans le thermocycleur et lancez le programme suivant:

Cycles	Temp	Durée	Etape
1	95 °C	3 min	Dénaturation initiale
40	95 °C	15 sec	Dénaturation
	60 °C	1 min	Annealing/Extension – Réception de données dans le canal FAM et HEX

Graphique des résultats



Extraits de la fiche technique Biolabo pour le dosage de l'ALAT (REF 80027)**REACTIFS****flacon R1****REACTIF DE TRAVAIL**

2-Oxoglutarate	15 mmol/L
L-Alanine	500 mmol/L
LDH	≥ 1600 UI/L
NADH	$\leq 0,18$ mmol/L
Tampon Tris	100 mmol/L
pH à 30°C	$7,50 \pm 0,1$

Conservateur

Avant reconstitution : Xn, Nocif

R22-32 : Nocif en cas d'ingestion. Au contact d'un acide, dégage un gaz très toxique.

Après reconstitution : Néant

S22-S28 : Ne pas respirer les poussières. Après contact avec la peau, se laver immédiatement et abondamment avec de l'eau

PRELEVEMENT ET PREPARATION DU SPECIMEN (2) (7)

Sérum ou plasma hépariné, non hémolysés.

L'ALT est stable dans le sérum et le plasma :

- 24 heures à température ambiante.
- 7 jours à 2-8°C.

CALIBRATION

La validité des résultats dépend de l'exactitude de la calibration de l'instrument, du juste décompte du temps, du respect du rapport volume réactif/volume spécimen et du contrôle de la température.

- Utiliser le facteur théorique (§ CALCUL).
- ou REF 95015 BIOLABO Multicalibrator (*valeur attribuée sous contrôle métrologique, par traitement statistique des données*)
- ou un multicalibrateur sérique enzymatique raccordé sur une solution ou une méthode de référence

CONTRÔLE DE QUALITE**CODE CNQ : SB**

- BIOLABO EXATROL-N (taux I) REF 95010.
- BIOLABO EXATROL-P (taux II) REF 95011.
- Tout autre sérum de contrôle titré pour cette méthode.
- Programme externe de contrôle de la qualité.

Il est recommandé de contrôler dans les cas suivants :

- Au moins un contrôle par série.
- Au moins un contrôle par 24 heures.
- Changement de flacon de réactif.
- Après opérations de maintenance sur l'analyseur.

Lorsqu'une valeur de contrôle se trouve en dehors des limites de confiance, appliquer les actions suivantes :

1. Répéter l'opération en utilisant le même contrôle.
2. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, préparer un sérum de contrôle fraîchement reconstitué et répéter le test.
3. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, vérifier les paramètres de l'analyse : longueur d'onde, température, volume spécimen/volume réactif, temps de mesure et facteur de calibration.
4. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, utiliser un autre flacon de réactif et répéter le test.
5. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, contacter le service technique BIOLABO ou le revendeur local.

MODE OPERATOIRE (TECHNIQUE MANUELLE)

Ramener les réactifs et spécimens à température ambiante.

Introduire dans une cuve de lecture de 1 cm de trajet optique :	
Réactif	1 mL
Laisser la température s'équilibrer à 37°C (30°C) puis ajouter :	
Spécimen	100 µL
Mélanger. Après 1 minute, enregistrer l'absorbance initiale à 340 nm puis toutes les minutes pendant 3 minutes.	
Calculer la moyenne des variations d'absorbance par minute ($\Delta\text{Abs}/\text{min}$).	

CALCUL

Le résultat est déterminé d'après la formule suivante :

Avec facteur théorique :

$$\text{UI/L} = (\Delta\text{Abs./min.}) \times 1746$$

$$\mu\text{Kat/L} = \frac{\text{UI/L}}{60}$$