

**DOSAGE ENZYMATIQUE DU GLUCOSE SERIQUE EN POINT FINAL :
METHODE A LA G.O.D. COUPLEE A LA P.O.D.**

Le glucose d'un sérum humain sera dosé par une méthode de **DOSAGE ENZYMATIQUE** dite « **EN POINT FINAL** ». On utilisera le kit RTU commercialisé par BioMérieux® contenant un réactif prêt à l'emploi.

I. PROTOCOLE OPERATOIRE

1. Le réactif RTU de BioMérieux®

CONSTITUANTS	CONCENTRATION
Tampon phosphate pH 6,5	225 mmol.L ⁻¹
4-aminophénazone	0,3 mmol.L ⁻¹
Glucose oxydase GOD	>10000 UI
Péroxydase POD	>300 UI

2. Préparation d'une solution de contrôle C

Préparer 100 mL de solution de contrôle à environ 1,5 g.L⁻¹ en pesant exactement une masse de glucose autour de

Masse pesée de glucose m_{glucose} =

3. Dosage du glucose dans un sérum

Vous disposez d'une solution étalon de glucose à 2 g.L⁻¹, d'un sérum S et d'une solution de contrôle C.

Réaliser la colorimétrie selon le tableau suivant directement dans les microcuvettes :

Tube	0	Etalon	S1	S2	C1	C2
Solution à doser (en μL)	0	10	10	10	10	10
Réactif (en mL)	1	1	1	1	1	1

Réaliser 2 essais S1 et S2 sur le sérum ainsi que 2 essais C1 et C2 sur la solution de contrôle.

Boucher les cuvettes avec du parafilm et bien homogénéiser.

Incuber le temps nécessaire à une réaction totale (20 min à 20-25 °C ou 10 min à 37 °C)

Mesurer les absorbances contre le tube de blanc réactif (tube 0) à 505 nm.

II. SECURITE

Respecter les précautions liées à la manipulation de sérum humain.

III. COMPTE-RENDU

1. Précautions liées à la manipulation.
2. Indiquer le rôle de chaque constituant du réactif RTU.
3. Reproduire et compléter le tableau suivant :

Tube	0	Etalon	S1	S2	C1	C2
A _{505 nm}						

4. Ecrire la loi de Beer-Lambert appliquée à la solution étalon.
5. Ecrire la loi de Beer-Lambert appliquée à un essai sur le sérum.
6. Dédurre des équations précédentes (faire le rapport des 2) une formule littérale permettant de calculer la concentration massique de glucose dans un essai du sérum.
7. Faire l'application numérique pour les 2 essais sur le sérum S1 et S2 et donner la concentration en glucose du sérum ($s_r = 0,022 \text{ g.L}^{-1}$). Exprimer la concentration en mmol.L^{-1} .
8. Conclure sachant que la glycémie physiologique normale est comprise entre 3,90 et 5,55 mmol.L^{-1} .
9. Quelle est le rôle de la solution contrôle C ?
10. Calculer la concentration massique vraie de cette solution de contrôle.
11. A partir des mesures d'absorbance de C1 et C2, calculer pour les 2 essais la concentration massique expérimentale de la solution de contrôle. Donner la concentration de cette solution ($s_r = 0,022 \text{ g.L}^{-1}$).
12. Calculer l'inexactitude relative I_r (en %) du dosage sachant que :

$$I_r = \frac{|\rho_{\text{vraie}} - \rho_{\text{exp}}|}{\rho_{\text{vraie}}} \times 100$$

13. Conclure quant à la précision de cette méthode de dosage.