



**LE RÉSEAU DE CRÉATION
ET D'ACCOMPAGNEMENT PÉDAGOGIQUES**

**Ce document a été mis en ligne par le Réseau Canopé
pour la Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel.**

Ce fichier numérique ne peut être reproduit, représenté, adapté ou traduit sans autorisation.

BREVET DE TECHNICIEN SUPERIEUR BIOANALYSES ET CONTRÔLES

EPREUVE E3 – UNITE U31 BIOCHIMIE ET TECHNOLOGIES D'ANALYSE

SESSION 2017

Durée : 3 heures

Coefficient : 3

Matériel autorisé :

- Toutes les calculatrices de poche y compris les calculatrices programmables, alphanumériques ou à écran graphique que leur fonctionnement soit autonome et qu'il ne soit pas fait usage d'imprimante (Circulaire n°99-186, 16/11/1999)
- Dictionnaire anglais-français.

L'expression écrite, le soin et la formulation des réponses (concision, qualité des schémas, des tableaux...) seront évalués à hauteur de 3 points sur 60.

Dès que le sujet vous est remis, assurez-vous qu'il est complet.
Le sujet se compose de 15 pages, numérotées de 1/15 à 15/15.

Les biotechnologies et l'évolution des dispositifs de mesure de la glycémie pour les patients diabétiques

Les diabètes sont des pathologies en forte progression depuis la fin du XX^{ème} siècle. Ils se caractérisent par une incapacité de l'organisme à réguler la glycémie et sont responsables de nombreuses complications médicales parfois très graves. Le dépistage et le suivi de ces pathologies sont donc de véritables enjeux de santé publique.

Le contrôle de la glycémie est le seul moyen pour les sujets diabétiques de gérer la maladie et d'éviter ses complications. Le dosage du glucose peut être réalisé au laboratoire d'analyses médicales sur prescription par le médecin, et également de façon beaucoup plus régulière à domicile par le patient lui-même. Il existe pour cela différents dispositifs fiables et simples d'utilisation qui ont été mis en place et améliorés avec l'avancée des biotechnologies, et plus précisément du génie enzymatique.

Nombre de ces dispositifs utilisent une enzyme : la Glucose Oxydase (GOD) comme auxiliaire technologique. Le choix de cette enzyme repose en premier lieu sur sa spécificité vis-à-vis du glucose, mais aussi sur la maîtrise des techniques pour sa production et son conditionnement.

Il est donc judicieux, compte-tenu des enjeux d'efficacité technologique et des enjeux financiers, de l'utiliser pour la détermination de la glycémie dans des coffrets de diagnostic par colorimétrie ou au niveau de biocapteurs.

1. Optimisation de la purification d'un extrait de Glucose Oxydase (GOD) (14 points)

L'enzyme peut être extraite et purifiée à partir d'une culture de souches productrices : *Aspergillus* ou *Penicillium*. Les différentes étapes de purification réalisées à 4 °C sont résumées dans le logigramme fourni dans le **document 1**.

Q1. Analyser le logigramme du **document 1** pour :

- **identifier** les caractéristiques physico-chimiques des molécules permettant leur séparation à chaque étape,
- **préciser** le rôle des deux étapes de dialyse.

Lors de l'optimisation du protocole de purification par précipitation fractionnée, différentes concentrations de sulfate d'ammonium ont été testées sur différentes souches. Les résultats de purification de la GOD sont présentés dans le **document 2**.

Q2. Expliquer le calcul de l'activité spécifique et du rendement de conservation de l'enzyme en prenant pour exemple un des résultats obtenus pour la souche *Fusarium sp.*

Q3. Commenter les résultats obtenus pour les différentes souches et **conclure** de façon argumentée sur le choix de la souche et de la concentration en sulfate d'ammonium.

Remarque : le contrôle *Fusarium sp* sera utilisé pour les trois souches.

BTS BIOANALYSES ET CONTRÔLES		Session 2017
U31 - Biochimie et technologies d'analyse	Code : BAE3BT	Page : 2 sur 15

Le **document 3** donne les principales propriétés catalytiques de la GOD ainsi qu'une représentation schématique de son site actif.

Q4. À partir des représentations du **document 3**, **montrer** l'importance de la structure tertiaire de la GOD pour son activité.

2. Contrôles de qualité internes lors du dosage enzymatique du glucose au laboratoire **(12 points)**

Le dosage du glucose est réalisé classiquement au laboratoire d'analyses médicales par une méthode enzymatique fondée sur la réaction d'oxydation du glucose catalysée par la Glucose Oxydase.

Différents coffrets enzymatiques sont utilisés pour ce dosage, par exemple le kit Glucose RTU™ (Biomérieux) dont un extrait de la fiche technique est fourni dans le **document 4**.

Q5. Expliquer l'utilité de la réaction catalysée par la peroxydase.

Q6. Retrouver toutes les conditions opératoires permettant de **déduire** que le type de dosage enzymatique est un dosage de substrat en point final.

Montrer, à l'aide des données toxicologiques présentées dans le **document 5** que le réactif RTU utilisé répond aux conditions de non dangerosité.

Q7. Établir l'équation aux grandeurs permettant le calcul de la concentration en glucose de l'échantillon.

Pour s'assurer de la validité de chaque série de dosages, le laboratoire effectue systématiquement des contrôles préliminaires. Pour réaliser cette validation, le dosage est mis en œuvre sur un sérum contrôle « normal » UNITROL™ et un sérum contrôle « haut » LYOTROL™ P. Les valeurs obtenues doivent se situer dans l'intervalle d'acceptabilité.

	Concentration en glucose	Limites de l'intervalle d'acceptabilité
UNITROL™	5,73 mmol·L ⁻¹ (1,03 g·L ⁻¹)	4,93 - 6,53 mmol·L ⁻¹ (0,89 - 1,18 g·L ⁻¹)
LYOTROL™P	11,1 mmol·L ⁻¹ (2,00 g·L ⁻¹)	10,4 - 11,8 mmol·L ⁻¹ (1,87 - 2,13 g·L ⁻¹)

Les résultats obtenus dans les conditions de réalisation du test sont :

	A_{505 nm}
Sérum UNITROL™	0,319
Sérum LYOTROL™P	0,715
Solution étalon de glucose à 1,00 g·L ⁻¹	0,344

Q8. Calculer les valeurs expérimentales obtenues pour la concentration de chaque sérum contrôle et **conclure**.

Montrer l'intérêt d'utiliser ces deux contrôles dans le cas du diabète.

3. Les dispositifs d'autocontrôle de la glycémie (18 points)

La technologie des électrodes à enzymes qui s'est considérablement développée depuis les années 1970 a permis la mise au point de biocapteurs enzymatiques utilisés dans de nombreux dispositifs d'autocontrôle commercialisés pour un suivi de la glycémie par le patient lui-même, à domicile et de façon beaucoup plus régulière.

Le principe de fonctionnement est décrit dans le **document 6**.

3.1. Immobilisation de la GOD

Il existe différentes techniques d'immobilisation reposant sur des procédés chimiques ou physiques. Les principales méthodes utilisées sont le greffage covalent sur un support, la réticulation sur une protéine neutre ou l'inclusion dans un gel. Selon les cas l'enzyme est alors insolubilisée ou simplement confinée tout en restant soluble.

Q9. Expliquer le principal intérêt de l'immobilisation des enzymes dans les procédés technologiques.

Q10. Illustrer à l'aide de schémas simples les différentes techniques d'immobilisation présentées.

Comparer les valeurs de K_M de la GOD données dans le **document 3** et **proposer** une hypothèse expliquant l'origine de cette différence de valeur.

3.2. Fonctionnement de l'électrode à enzyme

Au niveau du biocapteur, l'oxydation du glucose se fait en deux étapes avec transfert des électrons libérés sur un médiateur dont l'oxydation anodique est finalement responsable du signal électrique mesuré.

Q11. À l'aide des potentiels redox standards donnés dans le **document 6**, **calculer** la variation d'enthalpie libre standard au cours de l'oxydation d'une mole de glucose au niveau du biorécepteur et **commenter** le résultat.

Données : $\Delta G = -n F (E^\circ_{\text{couple oxydant}} - E^\circ_{\text{couple réducteur}})$

n : nombre d'électrons échangés

$F = 96500 \text{ J}\cdot\text{V}^{-1}\cdot\text{mol}^{-1}$

Les électrodes à enzymes permettent de mettre en œuvre des dosages enzymatiques de substrat par méthode cinétique. Dans certaines conditions opératoires, il est en effet possible d'obtenir une quasi proportionnalité entre la vitesse initiale de la réaction catalysée par une enzyme Michaelienne et la concentration initiale en substrat dans la solution où l'électrode est plongée.

Q12. Écrire l'équation de Michaelis Menten. **Préciser** la condition qui permet de simplifier cette relation et **montrer** que cette équation peut être simplifiée à l'équation d'une droite du type $v_i = \text{constante} \times [S]_i$. **Exprimer** cette constante.

BTS BIOANALYSES ET CONTRÔLES		Session 2017
U31 - Biochimie et technologies d'analyse	Code : BAE3BT	Page : 4 sur 15

3.3. Limites de fiabilité de ces dispositifs

La détermination de la concentration limite d'utilisation de ces électrodes à enzymes consiste à réaliser de nombreuses mesures.

Pour cela, différentes solutions étalons de glucose sont testées avec l'électrode étudiée et l'intensité du signal électrique est mesurée.

Q13. Tracer l'allure de la courbe de Michaelis-Menten.

Annoter les points clés sur les axes et **repérer** sur cette courbe le domaine de concentrations possible pour l'utilisation de l'électrode.

Préciser la concentration maximale de la solution étalon de glucose qui permet de rester dans le domaine de concentrations possible pour l'utilisation de l'électrode (on considèrera pour cela la valeur moyenne de K_M annoncée dans le **document 3**).

Les résultats obtenus avec ce type de dispositif peuvent être faussés par des interférences pathologiques ou médicamenteuses dont certaines ont fait l'objet d'une note édictée par l'afssaps (<http://afssaps.sante.fr/> ; rubrique « sécurité sanitaire et alertes », informations & recommandations, 2004).

Le principe actif d'un médicament est notamment suspecté de pouvoir jouer un rôle inhibiteur par compétition au niveau du biorécepteur.

Q14. Tracer sur le graphe précédent la courbe qui serait obtenue en présence de cet inhibiteur compétitif en **justifiant** l'évolution des paramètres cinétiques V_m et K_M par l'action de l'inhibiteur. En **déduire** les conséquences pour le patient qui recevrait ce type de traitement.

4. Importances métaboliques de la régulation de la glycémie (13 points)

Chez les diabétiques, sans suivi ni contrôle médical, des variations excessives et fréquentes de la glycémie peuvent présenter des risques importants pour l'organisme : la glycémie est essentiellement régulée grâce à deux hormones pancréatiques à action antagoniste : l'insuline et le glucagon.

Le mode d'action de l'insuline est résumé dans le **document 7**.

Les troubles métaboliques observés dans les diabètes sont la conséquence de l'absence de sécrétion d'insuline ou d'une anomalie dans l'action de cette dernière.

Q15. Identifier les voies métaboliques numérotées 4, 5 et 6 dans le **document 7**.

Lors du diabète, le déficit en insuline empêche l'entrée du glucose dans les cellules, et entraîne l'activation de la glycogène phosphorylase. Cette enzyme catalyse la dégradation des réserves de glycogène à partir de l'extrémité non réductrice.

Q16. Écrire l'équation de la réaction de phosphorolyse d'une liaison osidique du glycogène, qui sera noté pour simplifier D-glucopyranosyl α (1 \rightarrow 4)_n.

Le **document 8** présente une autre voie métabolique activée : la dégradation des acides gras.

BTS BIOANALYSES ET CONTRÔLES		Session 2017
U31 - Biochimie et technologies d'analyse	Code : BAE3BT	Page : 5 sur 15

Q17. Représenter sur la copie les formules chimiques des molécules A, B et C manquantes.
Établir le bilan moléculaire d'un tour d'hélice.

Le bilan moléculaire de la dégradation de l'acide stéarique (C18) est le suivant :

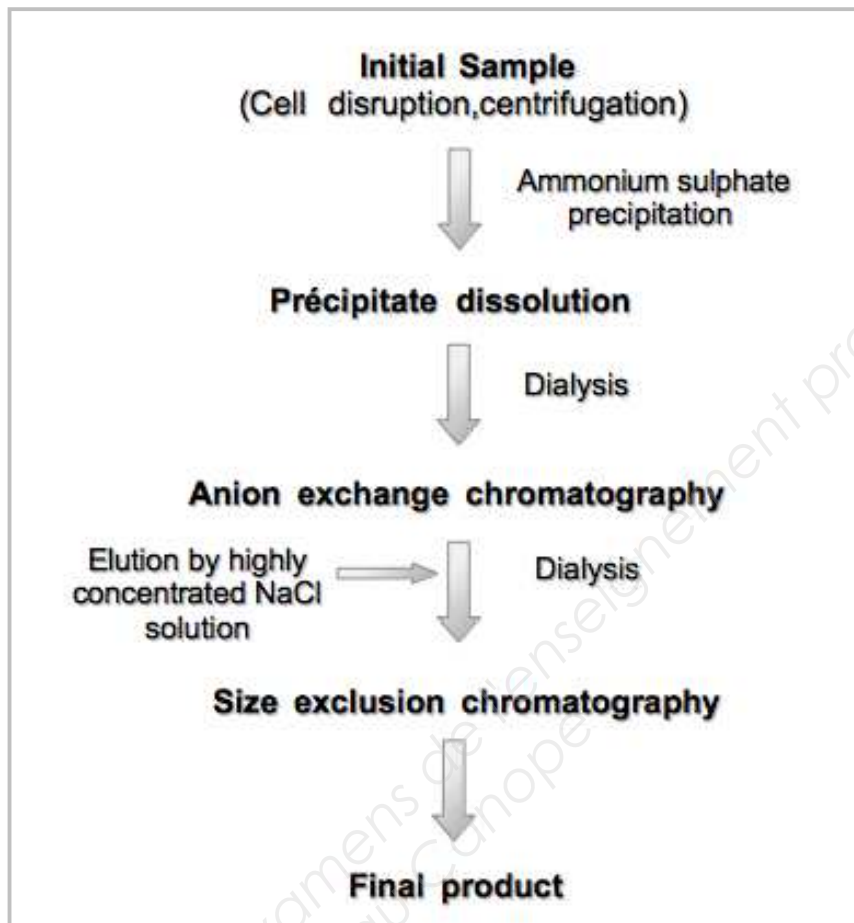


Préciser le devenir possible de l'acétylCoA en **nommant** la voie métabolique qu'il rejoint.
Citer le rôle de cette voie dans le métabolisme cellulaire.

Q18. Calculer le bilan énergétique de la dégradation d'un acide gras à en C18 jusqu'à l'acétylCoA, après réoxydation des coenzymes réduits par la chaîne respiratoire mitochondriale sachant que : la réoxydation de 1 NADH, H⁺ permet la formation de 3 ATP et la réoxydation de 1 FADH₂ permet la formation de 2 ATP.

Montrer l'intérêt de cette voie métabolique pour l'organisme dans le cas du diabète.

DOCUMENT N°1 : Les différentes étapes de purification de la GOD fongique



DOCUMENT N°2 : Purification de la GOD produite à partir de différentes souches par précipitation fractionnée au sulfate d'ammonium

The precipitation of crude glucose oxidase enzyme extract was carried out by adding different amounts of ammonium sulphate to give saturation from 10 to 50 %. The solution was left overnight at 4 °C until the complete precipitation occurred, and then centrifuged at 15000 rpm for 15 minutes. Each fraction precipitate was dissolved immediately in a known volume (20 mL) of 0.1 M citrate phosphate buffer (pH 5.6). The dissolved fractional precipitates were tested for both glucose oxidase activity and protein content.

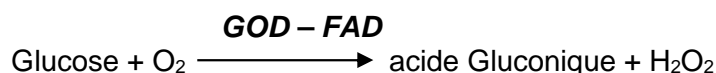
U: One unit of enzyme was defined as the amount that could oxidize 1.0 µmol of D-glucose to gluconic acid and H₂O₂ per minute at pH 5.6 at 30 °C.

Ammonium sulphate conc. %	Total glucose oxidase activity (U/100mL)	Total protein content (mg/100mL)	Specific activity (U/mg protein)	Enzyme yield percentage
<i>Fusarium sp.</i>				
Control*	99.2	5.65	17.6	100
10	21.6	1.30	16.6	22
20	38.4	2.16	17.8	39
30	42.1	2.35	17.9	42
40	57.7	3.21	18.0	58
50	60.4	3.32	18.2	61
<i>Penicillium sp.</i>				
10	99.6	2.73	36.5	86
20	86.6	2.54	34.1	75
30	78.6	2.36	33.3	68
40	59.1	2.21	26.8	51
50	35.6	1.69	21.0	31
<i>Aspergillus flavus</i>				
10	36.9	1.63	22.6	32
20	99.8	2.70	36.9	86
30	87.1	2.50	34.8	75
40	78.9	2.31	34.1	68
50	31.2	1.74	17.9	27

* Control : before ammonium precipitation

Adapted from International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences (IJCMAS)
ISSN: 2319-7706 Volume 2 Number 6 (2013) pp. 153-161

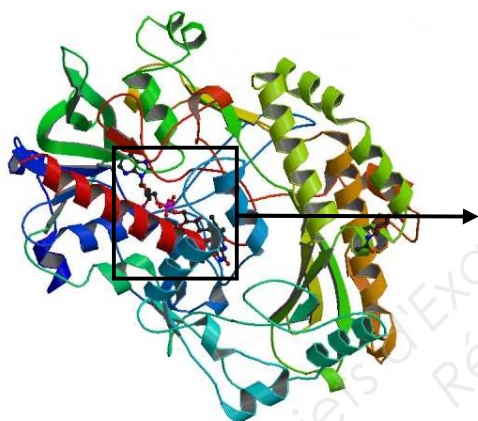
DOCUMENT N°3 : Propriétés catalytiques de la GOD



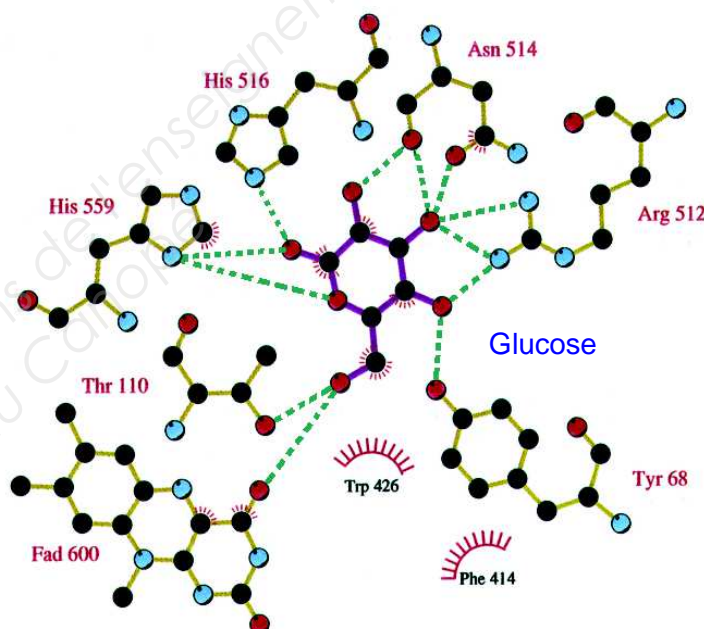
La catalyse de l'oxydation du glucose par la GOD requiert le coenzyme FAD (Flavine Adénine Dinucléotide) qui sert d'accepteur initial des électrons et se trouve ainsi réduit en FADH₂. Il sera ensuite réoxydé en FAD par l'oxygène moléculaire, accepteur final des électrons et réduit à son tour en peroxyde d'hydrogène (H₂O₂).

Caractéristiques de la GOD (valeurs moyennes, variables selon l'origine fongique)


- Enzyme Michaelienne dimérique
- M ~ 160 kDa
- T_{optimum} ~ 25°C
- pH_{optimum} ~ 5
- Pour l'enzyme libre K_M ~ 7 mmol·L⁻¹
- Pour l'enzyme immobilisée K_M ~ 60 mmol·L⁻¹



Représentation tridimensionnelle
de la GOD



Représentation schématique du site actif

Schematic representation of the hydrogen bonds and hydrophobic interactions  of the modelled substrate β-D-glucose with active-site residues in glucose oxidase from *A. niger* (LIGPLOT; Wallace et al., 1995 [Wallace, A. C., Laskowski, R. A. & Thornton, J. M. (1995). Protein Eng. 8, 127-134.]).

<https://www.ebi.ac.uk/thornton-srv/databases/cgi-bin/pdbsum/GetPage.pl?pdbcode=1cf3>
<http://www.rcsb.org/pdb/explore.do?structureId=1cf3>

DOCUMENT N°4 : Extrait de la fiche technique du kit Glucose RTU™ commercialisé par Biomérieux

REF 61 269 / 61 270

07987 1 - fr - 2010/07 **FR**

Glucose RTU™

IVD

Dosage enzymatique du glucose dans urines, sérum et plasma humains.

INTRODUCTION ET OBJET DU TEST (1)

Le glucose constitue la principale source énergétique des cellules (glycolyse). Il est apporté par l'alimentation sous forme de polysaccharides (amidon, glycogène exogène) ou de disaccharides (saccharose, lactose, maltose). Ceux-ci sont hydrolysés au cours de la digestion en monosaccharides, dont le glucose.

Au niveau du foie et des muscles, le glucose est partiellement transformé en glycogène, polymère de stockage. En cas de besoins énergétiques accrus, il y a glycogénolyse et / ou biosynthèse de glucose (néoglucogénèse au niveau du foie).

L'homéostasie glycémique assure un apport énergétique permanent aux cellules. La régulation de la glycémie est complexe et fait intervenir des enzymes hépatiques régulatrices et des hormones (insuline, hormones thyroïdiennes, glucagon...) qui assurent une adaptation rapide.

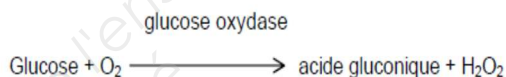
La régulation de la glycémie est en relation avec celle d'autres métabolismes dont celui des protéines et celui des acides gras.

En conditions physiologiques normales, le glucose n'est pas excrété dans les urines.

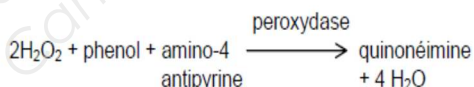
En dehors du dépistage et de la surveillance des états diabétiques, le dosage du glucose est réalisé lors d'affections pancréatiques, métaboliques ou endocriniennes. La fièvre et la dénutrition protéique entraînent également une baisse de la glycémie.

PRINCIPE

Le glucose est dosé en utilisant la séquence glucose oxydase – peroxydase – chromogène :



L'eau oxygénée formée est dosée selon la réaction de TRINDER (2).



L'intensité de la coloration (quinonéimine), mesurée à 505 nm, est proportionnelle à la quantité de glucose présente dans l'échantillon.

Code SFBC : H7

PRESENTATION ET COMPOSITION DU COFFRET

(Réf. 61 269 : 400 tests - Réf. 61 270 : 1000 tests)

Glucose RTU™	Tampon phosphate pH 6,6	225 mmol/l
- Réf. 61 269 : 4 x 100 ml (liquide)	Amino-4-antipyrine	0,3 mmol/l
- Réf. 61 270 : 4 x 250 ml (liquide)	Phénol	8,5 mmol/l
	EDTA	5 mmol/l
	Peroxydase	≥ 300 U/l
	Glucose oxydase	≥ 10 000 U/l
1 notice		

DOCUMENT N°4 : Extrait de la fiche technique du kit Glucose RTU™ commercialisé par Biomérieux (suite)

Réalisation du test

Longueur d'onde : _____ 505 nm (492 à 550 nm)
Zéro de l'appareil : _____ blanc réactif

	Blanc réactif	Etalon	Dosage
Etalon	-	10 µl	-
Echantillon	-	-	10 µl
Réactif	1 ml	1 ml	1 ml

Mélanger.
Photométrer après une incubation de :
• 10 minutes à 37°C.
• 20 minutes à 20-25°C.

Stabilité de la coloration : _____ 1 heure à 20-25°C.
Stabilité de l'étalonnage : Effectuer un étalonnage à chaque série de dosages.

RESULTATS ET INTERPRETATION

L'interprétation des résultats du test doit être faite en tenant compte du contexte clinique et éventuellement des résultats d'autres tests.

Calcul

$$\text{Concentration de l'échantillon} = \frac{DO_{\text{échantillon}}}{DO_{\text{étalon}}} \times n$$

n = concentration de l'étalon

Pour les urines, multiplier, si nécessaire, le résultat obtenu par le facteur de dilution.

FACTEUR DE CONVERSION

$$\text{mmol/l} \times 0,180 = \text{g/l}$$

$$n_{\text{GLUCOSE}} = 180 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$$

$$\text{g/l} \times 5,56 = \text{mmol/l}$$

$$\text{mg/dl} \times 0,056 = \text{mmol/l}$$

VALEURS ATTENDUES

Ces valeurs sont données à titre indicatif, il est recommandé à chaque laboratoire d'établir ses propres valeurs de référence sur une population rigoureusement sélectionnée.

Sérum ou plasma (1, 7)

	mmol/l	g/l	mg/dl
Prématurés	1,10 – 3,30	0,20 – 0,59	20 - 59
Nouveaux nés	1,70 – 3,30	0,31 – 0,59	31 - 59
Enfants	3,30 – 5,60	0,59 – 1,01	59 - 101
Femmes	4,10 – 5,90	0,74 – 1,06	74 – 106
Hommes	4,20 – 6,10	0,76 – 1,10	76 – 110

Urines

En conditions physiologiques normales, le glucose n'est pas excrété dans les urines.

PERFORMANCES (8)

Les études du réactif Glucose RTU™ ont donné les résultats suivants.

Les performances présentées ont été obtenues avec la méthodologie indiquée dans cette notice.

Toute déviation de méthodologie peut modifier les résultats.

Les performances sont données à titre indicatif.

Limite de détection analytique

Elle a été déterminée à partir de dosages effectués sur de l'eau déminéralisée (moyenne + 5 x écart type).

La limite de détection est inférieure ou égale à 0,07 mmol/l (0,013 g/l ou 1,26 mg/dl).

Linéarité

Le réactif est linéaire jusqu'à 22,2 mmol/l (4,00 g/l ou 400 mg/dl).

Précision

Précision intra-série

Trois échantillons sériques ont été dosés dans la même série.

	n	Moyenne (mmol/l)	C.V (%)
Niveau 1	20	2,58	2,01
Niveau 2	20	7,49	1,20
Niveau 3	20	17,00	1,10

Trois échantillons urinaires ont été dosés dans la même série.

	n	Moyenne (mmol/l)	C.V (%)
Niveau 1	20	1,21	3,45
Niveau 2	20	10,96	2,48
Niveau 3	20	31,50	2,15

Précision inter-séries

Trois échantillons sériques ont été dosés dans 20 séries différentes (1 série par jour).

	n	Moyenne (mmol/l)	C.V (%)
Niveau 1	20	1,85	3,01
Niveau 2	20	6,44	0,87
Niveau 3	20	19,80	1,17

CONTROLE DE QUALITE

- LYOTROL™ N (Réf. 62 373)
- LYOTROL™ P (Réf. 62 383)
- MONOTROL™ (Réf. 62 472)
- UNITROL™ (Réf. 62 453)

Pour s'assurer de la validité de la série, effectuer un contrôle à chaque série de dosages. La valeur obtenue doit être dans l'intervalle d'acceptation.

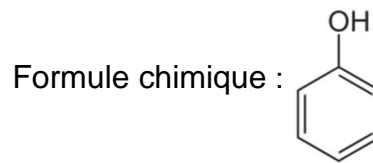
ATTESTATION DE NON-DANGEROUSITE

bioMérieux® SA certifie que le produit ci-dessus n'est pas considéré comme dangereux selon les critères décrits dans les Directives Européennes 67/548/CEE (substances dangereuses), 1999/45/CE (préparations dangereuses) et leurs mises à jour.

En conséquence, nous ne délivrons pas de fiche de données de sécurité pour ce produit.

FR

DOCUMENT N°5 : Extrait de la fiche toxicologique du phénol



N° CAS : 108-95-2

M = 94 g.mol⁻¹

Mention d'avertissement : Danger

Mentions de danger

- H301 - Toxique en cas d'ingestion
- H311 - Toxique par contact cutané
- H314 - Provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves
- H331 - Toxique par inhalation
- H341 - Susceptible d'induire des anomalies génétiques
- H373 - Risque présumé d'effets graves pour les organes à la suite d'expositions répétées ou d'une exposition prolongée

Limites de toxicité :
H301 – H311 – H331 si concentration ≥ 0,1 % (m/v)
H314 – H341 si concentration ≥ 1 %
H373 si concentration ≥ 10 %

Conseils de prudence

- P261 - Eviter de respirer les poussières/ fumées/ gaz/ brouillards/ vapeurs/aérosols
- P280 - Porter des gants de protection/ des vêtements de protection/ un équipement de protection des yeux/ du visage
- P301 + P310 - En cas d'ingestion : appeler immédiatement un centre antipoison ou un médecin
- 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
- P310 - Appeler immédiatement un centre antipoison ou un médecin.

DOCUMENT N°6 : Les biocapteurs enzymatiques

Un biocapteur enzymatique est un appareil qui utilise une réaction biochimique catalysée par une enzyme pour détecter et doser spécifiquement son substrat, en général par des signaux électriques.

Il se compose d'une enzyme immobilisée reliée à une électrode permettant de transformer un signal biochimique (transformation du substrat en produit) en un signal électrique ensuite amplifié et dont l'intensité est proportionnelle, dans certaines conditions, à la concentration du substrat de l'enzyme dans l'échantillon analysé.

Exemple d'un biocapteur à usage unique (de type « one touch »)

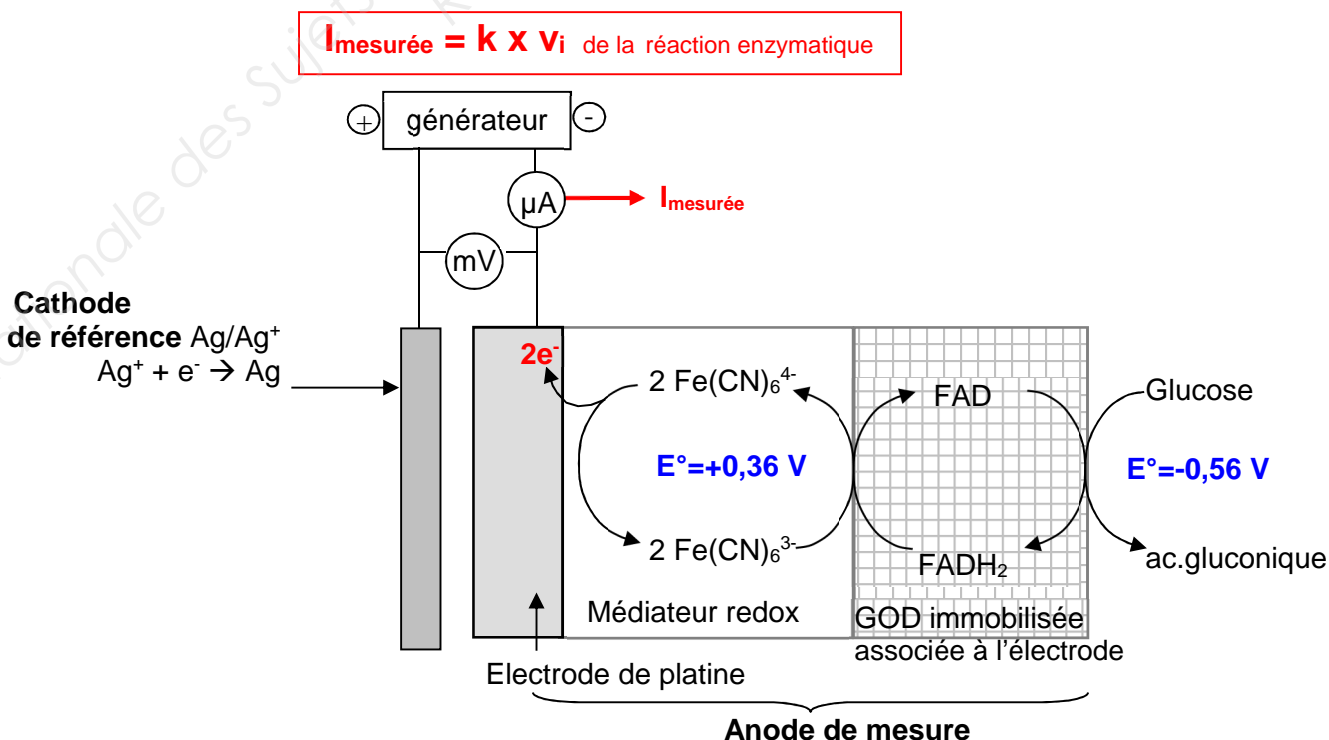
Une goutte de sang est déposée sur la bandelette support de l'électrode. Elle est ensuite introduite dans le lecteur (ampèremètre) pour obtenir la concentration en glucose dans le sang.



Principe de fonctionnement d'un biocapteur ampérométrique à Glucose

Le capteur utilise l'oxydation du glucose catalysée par la GOD avec transfert des électrons libérés sur un médiateur redox : le ferricyanure de potassium $K_3Fe(CN)_6$ qui subira ensuite une oxydation anodique : $2 Fe(CN)_6^{4-} \rightarrow 2 Fe(CN)_6^{3-} + 2 e^-$

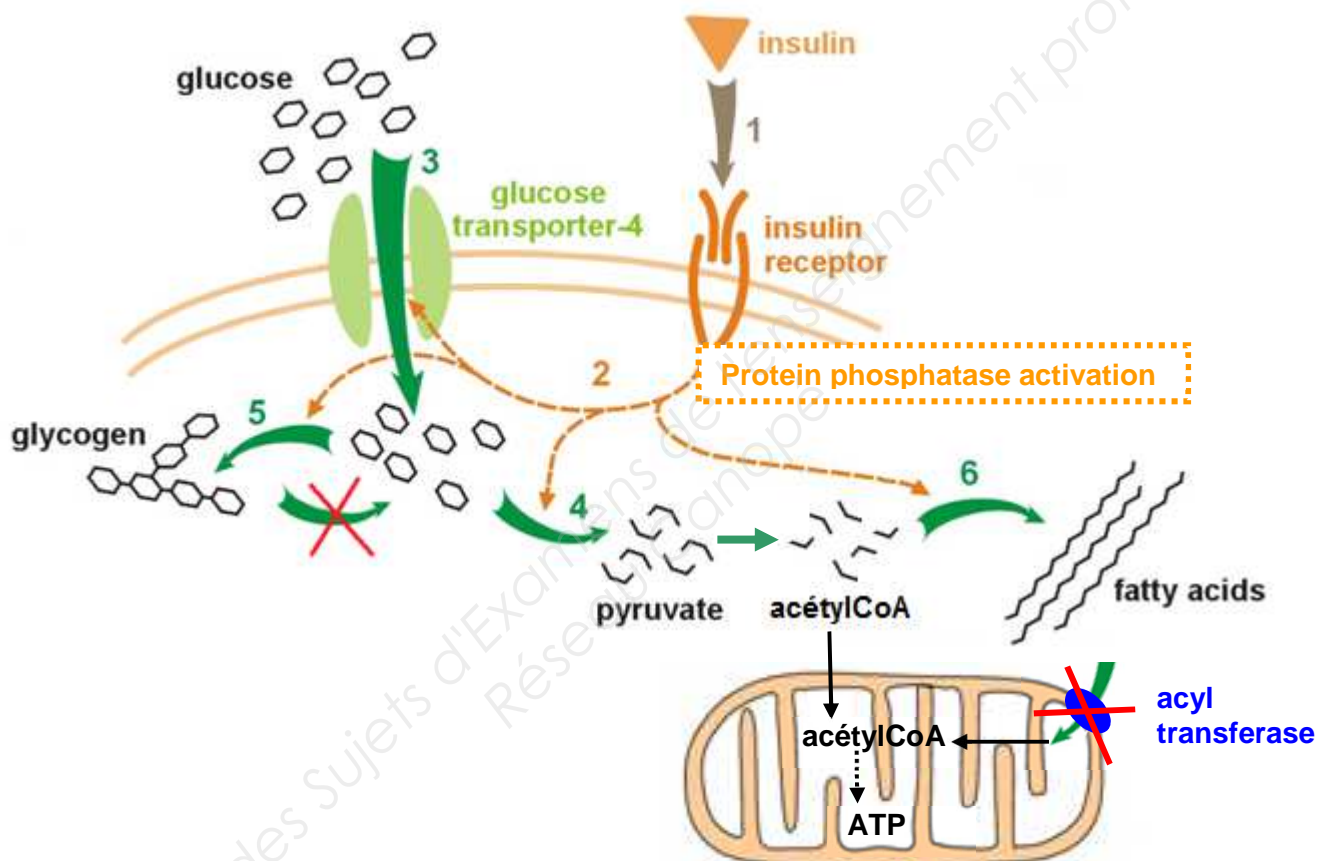
Une tension est appliquée entre l'électrode de mesure et l'électrode de référence et on mesure l'intensité du courant obtenu. Dans certaines conditions, l'intensité de ce courant est proportionnelle à la vitesse d'apparition du médiateur réduit, donc à la vitesse d'oxydation du glucose catalysée par la GOD :



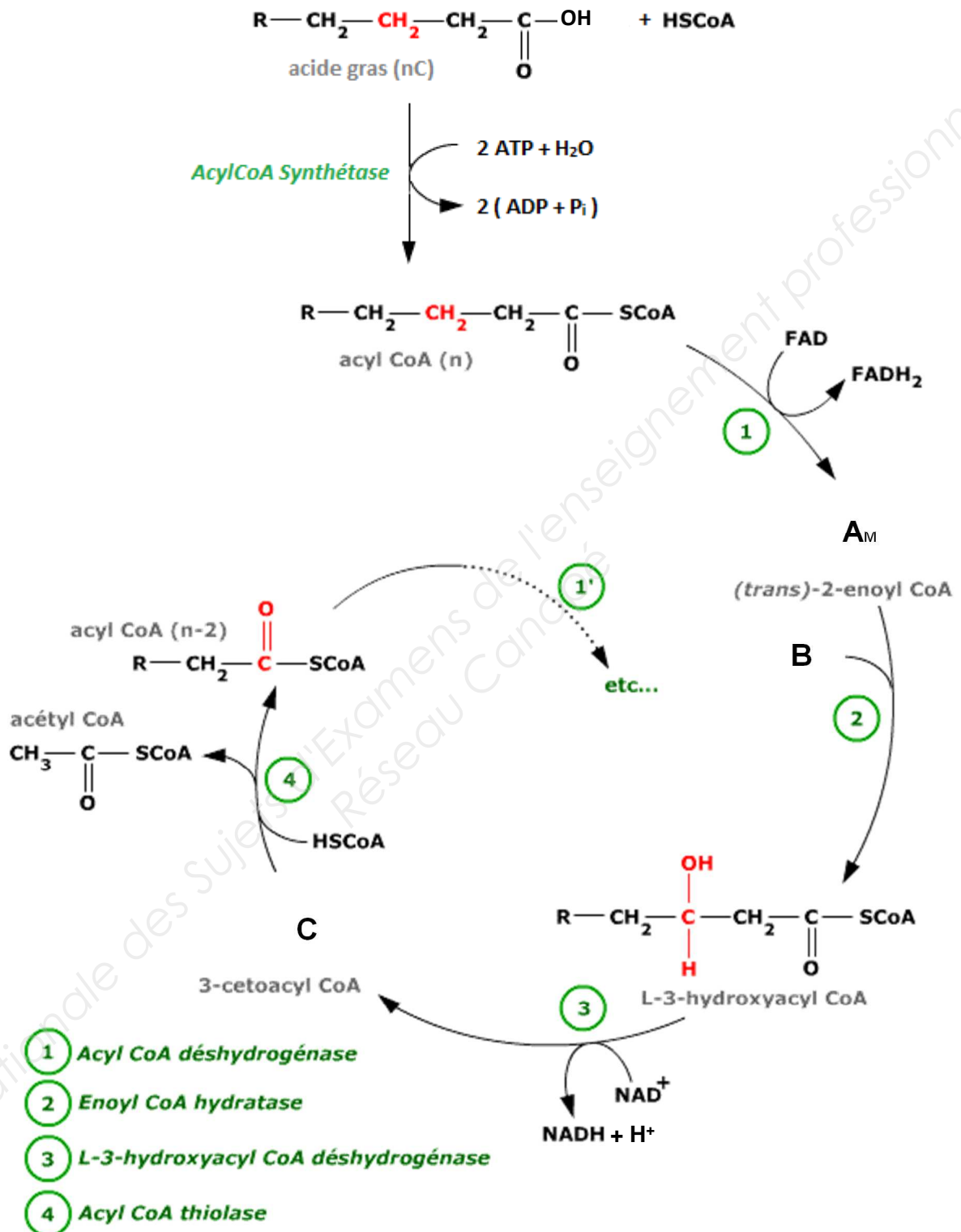
DOCUMENT N°7 : Mode d'action de l'insuline

En hyperglycémie le pancréas sécrète de l'insuline qui se fixe sur un récepteur membranaire (1) au niveau de ses cellules-cibles (hépatocytes, adipocytes et cellules musculaires) et déclenche une cascade d'évènements intracellulaires (2).

L'insuline va favoriser l'entrée du glucose dans les cellules via un transporteur membranaire (3), sa dégradation (4) et en cas de surplus son stockage sous forme de glycogène (5) ou de réserves lipidiques (6).



DOCUMENT N°8 : Voie métabolique de dégradation des acides gras



- 1 Acyl CoA déshydrogénase
- 2 Enoyl CoA hydratase
- 3 L-3-hydroxyacyl CoA déshydrogénase
- 4 Acyl CoA thiolase