

- ☑ **Vérifier la composition** du colis indiquée ci-dessous
- ☑ **Stocker** l'ensemble du kit à 4 °C. Les produits se conservent jusqu'à 3 mois avant ouverture.
- ☑ **Avant toute manipulation, étudier la fiche sécurité**

ATTENTION : les produits contenus dans ce kit contiennent des éléments toxiques.

COMPOSITION

- Une capsule de Glucose oxydase / Peroxydase (enzyme)
- Un flacon d'o-Dianisidine (cofacteur)
- Un sachet de glucose (0.5g)
- Une bouteille d'eau stérile (200ml)
- 25 poires compte-gouttes

MATERIEL NECESSAIRE

- Eau distillée
- Echantillon à tester
- Bain marie
- Colorimètre et dispositif ExAO
- Tubes 10ml stériles
- Micropipette et cônes
- Pipette 50ml

OBJECTIFS COGNITIFS

Mettre en œuvre une technique expérimentale de dosage du glucose dans le sang.

RAPPELS

La glycémie (du grec *glukus* = doux et *haima* = sang) est la concentration de glucose dans le sang, ou plus exactement dans le plasma sanguin. Elle est généralement mesurée en g/L ou en mMol/L.

Chez l'homme, la glycémie est très finement régulée. Les valeurs de glycémie varient selon l'état nutritionnel de la personne ; à jeun ou postprandial (c'est-à-dire après un repas). Elle varie aussi en fonction de l'âge et en cas de gestation.

Le seuil glycémique maximal à jeun, admissible pour ne pas être considérée diabétique, est de 1,26 g/l. C'est un seuil basé sur des analyses statistiques au delà duquel le risque de rétinopathie (maladie provoquant des troubles de la vision) lié à la glucotoxicité augmente.

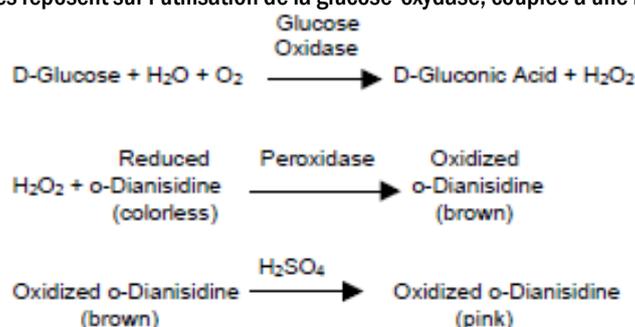
En 2006, une glycémie est considérée normale si elle est comprise entre 0,74 g/l et 1,06 g/l, avec une moyenne de 0,85g/l. Une glycémie postprandiale (après un repas) peut aller jusqu'à 1,8 g/l (soit 10 mMol/l).

Chez une personne diabétique, les valeurs de glycémie seront :

- plus de 7 mmol/L à jeun (soit 1,26 g/l)
- plus de 11 mmol/L après l'ingestion de 75g de glucose (soit 1,9 g/l)

Dans le cas d'une glycémie est trop élevée, on parle d'hyperglycémie. Dans le cas d'une glycémie trop basse, on parle d'hypoglycémie.

Presque toutes les techniques actuelles reposent sur l'utilisation de la glucose-oxydase, couplée à une réaction colorimétrique :



On mesure alors l'absorbance de la solution après réaction colorimétrique à la longueur d'onde 540nm ; celle-ci est proportionnelle à la concentration de glucose présente dans la solution testée.

PREPARATION

- Reprendre la Glucose oxydase/ peroxydase et la o-Dianisidine dans de l'eau distillée :
 - o Retirer le sachet de desséchant et le coton
 - o Ouvrir délicatement la gélule et la vider dans le flacon
 - o Ajouter 39.2ml d'eau distillée dans le flacon de Glucose oxydase/ peroxydase.
 - o Ajouter 1 ml d'eau distillée dans le flacon d'o-Dianisidine.
- Préparer la solution de réaction « GOD » : mélanger 0.8ml d'o-Dianisidine pour 39.2ml de Glucose oxydase/ peroxydase.
- Préparer une solution mère de glucose à 0.5g/L (10 ml par binôme).

MANIPULATION

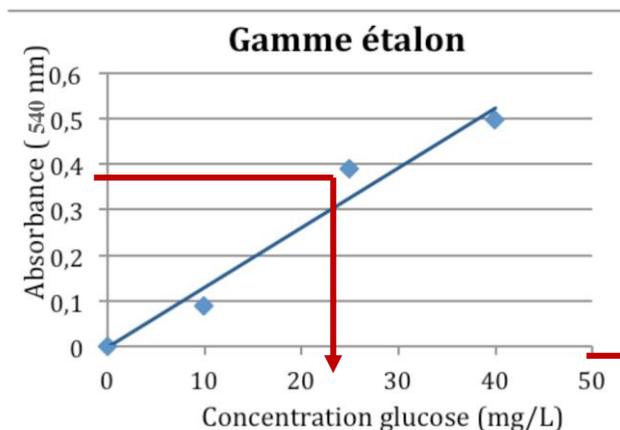
Réaliser la réaction enzymatique de dosage à la Glucose Oxydase / Peroxydase :

- A partir d'une solution de glucose à 0.5g/L, préparer une gamme étalon de glucose à 10, 25 et 40mg/L :
 - o 2ml d'eau + 40µl de glucose à 0.5g/L = 10mg/L
 - o 2ml d'eau + 100µl de glucose à 0.5g/L = 25mg/L
 - o 2ml d'eau + 160µl de glucose à 0.5g/L = 40mg/L
- Préparer une série de 5 tubes contenant :
 - o Solution ZERO : 2 ml de solution GOD et 2ml d'eau distillée
 - o Solution 1 : 2 ml de solution GOD et 2ml de solution de glucose à 10mg/L
 - o Solution 2 : 2 ml de solution GOD et 2ml de solution de glucose à 25mg/L
 - o Solution 3 : 2 ml de solution GOD et 2ml de solution de glucose à 40mg/L
 - o Solution à déterminer : 2 ml de solution GOD et 2ml de la solution à tester
- Incuber les préparations à 37°C pendant 30 minutes.

Suivi colorimétrique (ExAO) :

- Régler la mesure d'absorbance à 540nm (rouge).
- Utiliser la solution ZERO pour effectuer le blanc du colorimètre.
- Déterminer l'absorbance des solutions 1 à 3 et établir une droite étalon.
- Déterminer l'absorbance de la solution à tester.
- Déterminer la concentration en glucose de la solution à déterminer par rétro-lecture sur la droite étalon.

RESULTATS ATTENDUS ET INTERPRETATION



Concentration en glucose	Absorbance
0	0
10	0.089
25	0.389
40	0.497

L'absorbance de la solution à déterminer permet d'établir sa concentration en glucose par rétro-lecture.

FICHE DE CONSERVATION

Glucose Oxydase / Peroxydase : conservation un an à 4 °C avant ouverture, 6 mois à -20 °C ou 1 mois à 4 °C après remise en solution.

o-Dianisidine : conservation 1 an à 4 °C avant ouverture, 3 mois à 4 °C à l'abri de la lumière après remise en solution.

Mélange Glucose Oxydase / Peroxydase + o-Dianisidine : conservation 1 mois à 4 °C à l'abri de la lumière. En cas de coloration de la solution ou de l'apparition de précipité, jeter la préparation.

FICHE DE SECURITE

Porter une blouse et des gants pour toutes les manipulations. Remettre en solution sous une Sorbonne à extraction. Ne pas ingérer les produits.

Produit	Pictogramme et risques normalisés	Actions à mener en cas de			
		contact avec la peau	inhalation	projection dans les yeux	ingestion
Glucose Oxydase / Peroxydase (GOD Assay Reagent – GAG020)		Rincer immédiatement à l'eau claire.	Donner de l'air frais. Si des troubles apparaissent, consulter un médecin.	Laver immédiatement avec de grands volumes d'eau claire en écartant les paupières, pendant plusieurs minutes.	Rincer immédiatement la bouche à l'eau claire. NE PAS AVALER. Si des nausées apparaissent, faire vomir et consulter un médecin.
o-Dianisidine (D2679)		Rincer immédiatement à l'eau claire.	Donner de l'air frais. Si des troubles apparaissent, consulter un médecin.	Laver immédiatement avec de grands volumes d'eau claire en écartant les paupières, pendant plusieurs minutes.	Rincer immédiatement la bouche à l'eau claire. NE PAS AVALER. Si des nausées apparaissent, faire vomir et consulter un médecin.

NB : les produits ci-dessus sont toxiques à l'état de poudre et de solution concentrée. Après dilution dans la solution de glucose, les produits perdent leur potentiel dangereux (concentrations faibles).

L'ensemble des solutions peuvent être jetées dans les déchets ménagers.