

Dosage chromométrique de la protéine C

1° Principe :

En présence de l'activateur spécifique extrait d'Agkistrodon c. contortrix, la protéine C est transformée en protéine C activée, capable de dégrader le facteur VIII et le facteur V et, ce faisant, de prolonger le temps de Céphaline + activateur d'un système où tous les facteurs sont présents, constants et en excès à l'exception de la protéine C à doser apportée par le plasma du malade.

2° Technique :

2.1. Réactifs :

- Réactifs 1 (plasma humain dépourvu de protéine C).
- Réactifs 2 (fraction purifiée de venin d'Agkistrodon contortrix).
- CaCl₂.
- Tampon Owren-Koller.

2.2. Préparation des réactifs :

• Réactifs 1 :

Reconstituer chaque flacon par 1 mL d'eau distillée. Laisser la solution s'homogénéiser pendant 30 minutes à température ambiante.

• Réactifs 2 :

Reconstituer chaque flacon par 1 mL d'eau distillée. Laisser la solution s'homogénéiser pendant 30 minutes à température ambiante.

2.3. Mode opératoire :

• Préparation de la gamme d'étalonnage :

Diluer le thrombo calibrator ou le pool de plasma normaux au :

- 1/10 (correspond au taux 100%).
- 1/20 (correspond au taux 50%).
- 1/40 (correspond au taux 25%).

- **Préparation des plasmas à tester et des contrôles :**

Diluer les plasmas à tester et les contrôles au 1/10 en tampon Owren-Koller.

- **Dosage :**

Dans la mesure du possible tous les essais seront réalisés simultanément.

Dans un tube en plastique :	
Dilution du plasma	0,1 ml
Réactif 1	0,1 ml
Réactif 2	0,1 ml
Mélanger et incuber à 37°C pendant exactement	180 secondes
En déclenchant un chronomètre, ajouter le CaCl ₂ préincuber à 37°C	0,1 ml
Mélanger. Noter le temps de coagulation.	

3° Résultats :

Sur du papier millimétré, porter en abscisse les pourcentages d'activités en protéine C des étalons et en ordonnée les temps de coagulations correspondants.

Tracer la droite d'étalonnage et en déduire le taux de protéine C fonctionnelle des échantillons testés.

La méthode est linéaire de 10 à 120 % de protéine C. Si le taux de protéine C trouvé chez un patient est faible, il est recommandé de recommencer le dosage sur une dilution du plasma au 1/5. Dans ce cas le résultat lu sur la droite sera divisé par 2. Par contre lorsque le taux de protéine C est élevé, il est préférable de pratiquer le dosage sur une dilution au 1/20. Le résultat lu sur la droite sera alors multiplié par 2.