

Dosage de la Ferritine sérique

1° Principe :

C'est un dosage immunoenzymatique « sandwich ». Des billes recouvertes d'anti-Ferritine sont incubées avec le sérum et avec une anti-Ferritine conjuguée à une phosphatase alcaline (PAL).

La Ferritine présente dans le sérum se fixe à l'anti-Ferritine sur la bille, l'anti-Ferritine couplée à la phosphatase alcaline réagit alors avec le complexe antigène-anticorps lié à la bille.

Les composés non fixés sont éliminés par lavage.

Les billes sont incubées avec le substrat, PNPP incolore. La phosphatase alcaline va transformer le PNPP en PNP jaune.

L'intensité de la coloration, mesurée à 405 nm, est proportionnelle à la quantité d'enzyme fixée et donc à la quantité de Ferritine présente dans le sérum.

2° Technique :

2.1. Réactifs :

- Sérum à doser.
- E1 : sérum témoin négatif.
- E2 : sérum étalon de concentration connue.
- Billes recouvertes d'anti-Ferritine.
- R1 : anti-Ferritine liée à la phosphatase alcaline (PAL).
- R2 : solution de lavage.
- R3 : substrat (PNPP).
- R4 : solution de blocage.

2.2. Mode opératoire:

Dans 3 tubes à hémolyse, introduire :

	Témoin	Étalon	Dosage
Billes	1	1	1
E1	25 µl		
E2		25 µl	
Sérum			25 µl
	Agiter énergétiquement (vortex)		
R1	0,2 ml		
	Incuber 1 heure à 37°C		
	Laver 3 fois soigneusement les billes et les parois du tube avec R2 (4ml)		
R3	0,2 ml		
	Incuber 20 minutes à température ambiante		
R4	1,5 ml		

Lire, à 405 nm, les absorbances de l'étalon et du dosage contre le témoin.

2.3. Calcul:

$$\text{Concentration du sérum} = \frac{\frac{A_{\text{dosage}}}{A_{\text{étalon}}}}{\text{Concentration de l'étalon}}$$