

## Dosage immunologique de l'AT III

### 1° Principe :

Lorsqu'une suspension de microsphères de latex, sur lesquelles des anticorps spécifiques sont fixés par covalence, est traversée par un faisceau de lumière monochromatique de longueur d'onde très supérieure au diamètre des particules, la lumière n'est pas absorbée.

En présence de l'antigène à doser, les particules de latex s'agglutinent pour former des agrégats de taille supérieure à la longueur d'onde, et absorbent alors la lumière.

Il existe une relation directe entre la valeur de l'absorbance obtenue et le taux d'antigène.

### 2° Technique :

#### 2.1. Réactifs :

- Réactifs 1 :

Suspension de microparticules de latex stabilisées et recouvertes d'anticorps spécifiques.

- Réactifs 2 :

Tampon glycine.

#### 2.2. Préparation :

Verser le contenu d'un flacon de réactif 2 dans un flacon de réactif 1. Laisser la suspension se stabiliser 10 minutes à température ambiante.

#### 2.3. Etalonnage :

Il peut être réalisé de deux façons différentes en utilisant :

- Soit l'AT III calibrator.
- Soit un pool de plasmas humains normaux.

## 2.4. Mode opératoire :

- **Préparation de la gamme d'étalonnage :**

Diluer l'AT III calibrator ou le pool de plasmas humains normaux en NaCl :

<b>Taux d'AT III (en %)</b>	1	21/3	1/3
<b>Calibrator ou pool (en µl)</b>	100	100	50
<b>NaCl à 0,15M (en µl)</b>	900	1400	1450

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

Diluer les plasmas à tester et les contrôles au 1/10 en NaCl.

- **Dosage :**

Le dosage s'effectue en point final à température ambiante.

<b>Dans une cuve de mesure :</b>	
Dilution du plasma	100 µl
En déclenchant un chronomètre ajouter le réactif 1 dilué par le réactif 2	500 µl
Mélanger et attendre pour chaque échantillon exactement	20 minutes
Mesurer l'absorbance à 590 nm.	

## 3° Résultats :

Sur papier millimétré porter en abscisse les taux d'AT III des étalons et en ordonnée, les valeurs de l'absorbance correspondante.

Tracer la courbe d'étalonnage et en déduire le taux d'AT III des échantillons étudiés.