

Dosage photométrique de l'antithrombine III colorimétrique

1° Principe :

L'antithrombine III (AT III) ou cofacteur de l'héparine exerce une action antithrombinique puissante et immédiate en présence d'héparine.

Le dosage proposé se décompose en deux temps :

- L'AT III à doser est opposée à une quantité fixe et en excès de thrombine en milieu hépariné (une partie de la thrombine est neutralisée proportionnellement à l'AT III dans le milieu réactionnel).
- Dosage de la thrombine résiduelle non neutralisée par son activité amidasique sur le substrat synthétique chromo-thrombine.

Le dosage, n'étant pas influencé par l'héparinémie thérapeutique, peut être pratiqué valablement chez un sujet traité par l'héparine.

2° Technique :

2.1. Réactifs :

- Substrat chromo-thrombine.
- Thrombine titrée.
- Solution tampon.
- Acide acétique pur ou dilué au 1/2.

2.2. Reconstitution des réactifs :

• Chromo-thrombine :

Reconstituer par 1 mL d'eau distillée.

• Thrombine titrée :

Reconstituer par 1 mL d'eau distillée.

• Tampon :

A diluer 10 fois en eau distillée dans une fiole jaugée de 200 mL.

2.3. Etalonnage :

Il peut être réalisé de deux façons différentes en utilisant soit :

- Un pool de plasmas humains normaux prélevés dans les mêmes conditions que les plasmas à étudier, en excluant absolument les sujets sous oestroprogestatifs oraux.
- Le plasma AT III calibrator.

Le taux d'AT III est susceptible de varier d'un lot à l'autre, mais est indiqué précisément pour chaque lot.

Ce plasma de calibration est utilisé comme le pool de plasmas.

Toutefois, on portera en abscisse, lors de la construction de la droite d'étalonnage sur papier millimétré, non plus 100 % et 50 % mais les valeurs correspondant à chaque lot et à la moitié de cette valeur.