

## Dosage photométrique de l'héparine

### 1° Principe :

Le complexe héparine-AT III exerce une action inhibitrice sur les serines protéases de l'hémostase. L'effet inhibiteur sur le facteur Xa est largement responsable de l'action anticoagulante de l'héparine, particulièrement aux faibles doses.

Le dosage se décompose en trois temps :

- Formation du complexe AT III-héparine par addition d'AT III purifiée au plasma à doser.
- Action inhibitrice du complexe formé sur un excès connu de facteur Xa purifié.
- Mesure de l'activité du facteur Xa résiduel sur le substrat synthétique chromogène.

### 2° Technique :

#### 2.1. Réactifs :

- Facteur Xa.
- AT III.
- Substrat chromogénique.
- Tampon.
- Acide acétique.

#### 2.2. Préparation des réactifs :

- **Facteur Xa :**

Reconstituer par 4 ml d'eau distillée.

- **AT III :**

Reconstituer par 2 ml d'eau distillée.

- **Substrat :**

Reconstituer par 4 ml d'eau distillée.

- **Tampon :**

Diluer 10 fois en eau distillée.

### 2.3. Préparation des échantillons :

- **Gamme d'étalonnage :**

Dans le cadre de la surveillance de l'héparinothérapie à doses curatives, on utilisera une courbe d'étalonnage de 0 à 0,8 UI/ml.

- **Traitement des échantillons :**

Plasma à tester et plasma d'étalonnage seront traités de la manière suivante :

<b>Dans un tube en plastique :</b>	
Plasma à tester ou étalon	100 µl
AT III	100 µl
Tampon dilué	800 µl
<b>Agiter par retournement</b>	

### 2.4. Mode opératoire :

<b>Dans un tube à hémolyse à 37°C :</b>	
Dilutions	200 µl
Incuber	2 minutes
Facteur Xa	200 µl
Agiter puis incuber	30 secondes
Substrat chromogène	200 µl
Agiter puis incuber	30 secondes
Acide acétique	200 µl
Agiter	
<b>La coloration est stable plusieurs heures</b>	
<b>Transvaser dans une cuve et lire la DO à 405 nm contre le blanc obtenu en mélangeant dans l'ordre :</b>	
Acide acétique	200 µl
Facteur Xa	200 µl
Dilution	200 µl
Substrat chromogène	200 µl

Tracer la courbe d'étalonnage sur papier millimétré.