

Antithrombin III

Turbidimetry

Quantitative determination of Antithrombin III (ATHROM-III) IVD

Store 2 - 8°C.

INTENDED USE

The ATHROM-III is a quantitative turbidimetric test for the measurement of antithrombin III in human serum or plasma.

PRINCIPLE OF THE METHOD

Anti-antithrombin III antibodies when mixed with samples containing antithrombin-III, form insoluble complexes. These complexes cause an absorbance change, dependent upon the antithrombin-III concentration of the patient sample, that can be quantified by comparison from a calibrator of known antithrombin-III concentration.

CLINICAL SIGNIFICANCE

Antithrombin III is a protein synthesized in the liver, normally present in the human plasma. It is the major inhibitor of the thrombin, and inhibits coagulation and limits the forming of blood clots. Antithrombin-III is also capable of activating other components of the coagulation cascade (eg, factor Xa), as well as plasmin. Antithrombin-III deficiency can cause or lead to thrombosis, a clot forming in a blood vessel. Clots forming in the legs and pulmonary embolism are most commonly reported. Antithrombin-III deficiency is usually inherited and affects males and females equally. All family members should be tested if there is history of the disease.

Acquired antithrombin-III deficiency can occur as a result of other conditions. It has been reported in patients with liver diseases, patients receiving certain kinds of chemotherapy, and patients using oral contraceptives.

REAGENTS

Diluent (R1)	Tris buffer 20 mmol/L, PEG 8000, pH 8.3 Sodium azide 0.95 g/L.
Antibody (R2)	Goat serum, anti-human antithrombin III, pH 7.5. Sodium azide 0.95 g/L.
Optional	Ref: 1102003 PROT CAL.

CALIBRATION

It must be used the PROT CAL to calibrate the reagent. The reagent (both monoreagent and bireagent) should be recalibrated every week, when the controls are out of specifications, and when changing the reagent lot or the instrument settings.

PREPARATION

Reagents: Ready to use.

Calibration Curve: Prepare the following PROT CAL dilutions in CNa 9 g/L as diluent. Multiply the concentration of the ATHROM-III calibrator by the corresponding factor stated in table below to obtain the antithrombin-III concentration of each dilution.

Calibrator dilution	1	2	3	4	5	6
Calibrator (µL)	--	10	25	50	75	100
NaCl 9 g/L (µL)	100	90	75	50	25	-
Factor	0	0.1	0.25	0.5	0.75	1.0

STORAGE AND STABILITY

All the components of the kit are stable until the expiration date on the label when stored tightly closed at 2-8°C and contaminations are prevented during their use. Do not use reagents over the expiration date.

Reagent deterioration: The presence of particles and turbidity.

Do not freeze; frozen Antibody or Diluent could change the functionality of the test.

ADDITIONAL EQUIPMENT

- Thermostatic bath at 37°C.
- Spectrophotometer or photometer thermostatable at 37°C with a 340 nm filter (320 - 360 nm).

SAMPLES

Fresh serum or plasma. Sodium citrate should be used as anticoagulant. Stable 7 days at 2-8°C or 3 months at -20°C.

Do not use highly hemolyzed or lipemic samples.

PROCEDURE

1. Bring the reagents and the photometer (cuvette holder) to 37°C.
2. Assay conditions:

Wavelength : 340 nm
Temperature : 37 °C
Cuvette lighth path : 1cm

3. Adjust the instrument to zero with distilled water.

4. Pipette into a cuvette:

Reagent R1 (µL)	800
Sample or Calibrator (µL)	20

5. Mix and read the absorbance (A_1) after the sample addition.
6. Immediately, pipette into de cuvette:

Reagent R2 (µL)	200
-----------------	-----

7. Mix and read the absorbance (A_2) of calibrators and sample exactly 5 minutes after the R2 addition.

Spinreact has instruction sheets for several automatic analyzers. Instructions for many of them are available on request.

CALCULATIONS

Calculate the absorbance difference ($A_2 - A_1$) of each point of the calibration curve and plot the values obtained against the antithrombin-III concentration of each calibrator dilution. Antithrombin-III concentration in the sample is calculated by interpolation of its ($A_2 - A_1$) in the calibration curve.

QUALITY CONTROL

Control sera are recommended to monitor the performance of manual and automated assay procedures. Spinreact PROT CONTROL (Ref.:1102004) is available. Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

REFERENCE VALUES

Between 17 - 30 mg/dL. Each laboratory should establish its own reference range.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

1. **Measurement range:** Up to 70 mg/dL (Nota 1), under the described assay conditions. Samples with higher concentrations, should be diluted 1/5 in NaCl 9 g/L and retested again. The linearity limit depends on the sample / reagent ratio. It will be higher by decreasing the sample volume, although the sensitivity of the test will be proportionally decreased.
2. **Limit detection:** Values less than 7.4 mg/dL give non-reproducible results.
3. **Prozone effect:** No prozone effect was detected upon 200 mg/dL
4. **Sensitivity:** Δ 7.5 mA / mg/dL.
5. **Precision:** The reagent has been tested for 20 days, using two levels of serum in a EP5-based study.

EP5	CV (%)	
	17.85 mg/dl	35.93 mg/dl
Total	3.2%	3.5%
Within Run	0.8%	1%
Between Run	2.4%	2.4%
Between Day	2%	2.3%

6. **Accuracy:** Results obtained using this reagent did not show systematic differences when compared with reference reagents. Details of the comparison experiments are available on request.

The results of the performance characteristics depend on the used analyzer.

INTERFERENCES⁵⁻⁶

Bilirubin (up to 25 mg/dL) does not interfere. Rheumatoid factors (\geq 200 IU/mL) and lipemia (\geq 6 g/L), and hemoglobin (\geq 9 g/L), interfere. Other substances may interfere^{5,6}.

NOTES

1. Linearity depends on the calibrator concentration.
2. Clinical diagnosis should not be made on findings of a single test result, but should integrate both clinical and laboratory data.

BIBLIOGRAPHY

1. Clinical Guide to Laboratory Tests, Edited by NW Tietz W B Saunders Co., Philadelphia, 483, 1983.
2. Pesce AJ and Kaplan, LA. Methods in Clinical Chemistry. The CV Mosby Company, St. Louis MO, 1987.
3. Buller HR et al. Critical care Medicine 1982; 10: 311.
4. Kauffman et al. Am J Med 1978; 65: 607.
5. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Pres, 1995.
6. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Pres, 1997.

PACKAGING

Ref.: 1102016	Cont.	R1. Diluent: 1 x 40 mL R2. Antibody: 1 x 10 mL
---------------	-------	---

Determinación cuantitativa de Antitrombina III (ATHROM-III) IVD

Conservar a 2 - 8°C.

USO RECOMENDADO

Ensayo turbidimétrico para la cuantificación de antitrombina III en suero o plasma humano.

PRINCIPIO DEL METODO

Los anticuerpos antitrombina III forman compuestos insolubles cuando se combinan con la antitrombina III de la muestra del paciente, ocasionando un cambio de absorbancia proporcional a la concentración de antitrombina III en la muestra, y que puede ser cuantificada por comparación con un calibrador de antitrombina III de concentración conocida.

SIGNIFICADO CLINICO

La antitrombina III es una proteína sintetizada en el hígado, normalmente presente en el plasma humano. Es el inhibidor más importante de la trombina, e inhibe la coagulación y limita la formación de coágulos sanguíneos. La antitrombina III activa otros componentes de la cascada de coagulación (ej, factor Xa), así como la plasmina.

El déficit de antitrombina III puede causar o conducir a la trombosis, la formación de coágulos en los vasos sanguíneos. Los coágulos que se forman en las extremidades inferiores y el embolismo pulmonar son ejemplos típicos. La deficiencia de antitrombina III es normalmente hereditaria y afecta tanto a hombres como mujeres. Todos los miembros de una misma familia afectada por esta enfermedad deberían controlarse.

La deficiencia de antitrombina III adquirida puede aparecer como resultado de otras condiciones tales enfermedades hepáticas, tratamientos de quimioterapia, o el uso de contraceptivos orales.

REACTIVOS

Diluyente (R1)	Tampón tris 20 mmol/L, PEG 8000, pH, 8,3. Azida sódica 0,95 g/L.
Anticuerpo (R2)	Suero de cabra, anti-antitrombina III humana, pH 7,5. Azida sódica 0,95 g/L.
Opcional:	Ref: 1102003PROT CAL.

CALIBRACION

Debe utilizarse el PROT CAL para la Calibración. El reactivo (tanto monoreactivo como bireactivo) se debe recalibrar cada semana, cuando los controles están fuera de especificaciones, y cuando el lote de reactivo o la configuración del instrumento cambia.

PREPARACION

Reactivos: Listos para el uso.

Curva de Calibración: Preparar las siguientes diluciones del PROT CAL en C1Na 9 g/L como diluyente. Para obtener las concentraciones de cada dilución de antitrombina III, multiplicar la concentración de antitrombina III del calibrador por el factor correspondiente indicado en la tabla:

Dilución calibrador	1	2	3	4	5	6
Calibrador (µL)	--	10	25	50	75	100
C1Na 9 g/L (µL)	100	90	75	50	25	-
Factor	0	0.1	0,25	0,5	0,75	1,0

CONSERVACION Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables hasta la fecha de caducidad cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, y se evita la contaminación durante su uso. No utilizar reactivos que hayan sobrepasado la fecha de caducidad.

Indicadores de deterioro: La presencia de partículas y turbidez.

No congelar; la congelación del Anticuerpo o Diluyente puede afectar la funcionalidad de los mismos.

MATERIAL ADICIONAL

- Baño de agua a 37°C.

- Espectrofotómetro o fotómetro con cubeta termostatable a 37°C para lecturas a 340 nm (320-360 nm).

MUESTRAS

Suero o plasma fresco, recogido con citrato sódico como anticoagulantes. Estable 7 días a 2-8°C o 3 meses a -20°C.

No utilizar muestras altamente hemolizadas o lipémicas.

PROCEDIMIENTO

1. Calentar los reactivos y el fotómetro (portacubetas) a 37°C.

2. Condiciones del ensayo:

Longitud de onda: 340 nm

Temperatura: 37°C

Paso de luz de la cubeta: 1 cm

3. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.

4. Pipetear en una cubeta:

Reactivo R1 (µL)	800
Muestra o Calibrador (µL)	20

5. Mezclar y leer la absorbancia (A_1) después de la adición de la muestra.

6. Inmediatamente después, pipetear en la cubeta:

Reactivo R2 (µL)	200
------------------	-----

7. Mezclar y leer la absorbancia (A_2) exactamente después de 5 minutos de añadir el reactivo R2.

Spinreact dispone de adaptaciones detalladas a la mayoría de analizadores automáticos del mercado. Solicite la información a su distribuidor.

CALCULOS

Calcular la diferencia de absorbancias ($A_2 - A_1$) obtenidas para los distintos calibradores, y construir la curva de calibración de los valores obtenidos frente a las concentraciones de antitrombina III de cada dilución del Calibrador. La concentración de antitrombina III en la muestra se calcula por interpolación de su diferencia ($A_2 - A_1$) en la curva de calibración.

CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda utilizar sueros control para controlar los ensayos tanto en procedimiento manual como en automático. Spinreact dispone del PROT CONTROL Ref: 1102004.

Cada laboratorio debería establecer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias exigidas.

VALORES DE REFERENCIA

Entre 17 - 30 mg/dL. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERISTICAS DEL METODO

1. **Rango de medida:** hasta 70 mg/dL en las condiciones descritas del ensayo. Las muestras con valores superiores deben diluirse 1/5 con C1Na 9 g/L y ensayarse de nuevo. El intervalo de medida depende de la relación muestra/reactivo. Disminuyendo el volumen de muestra, se aumenta el límite superior del intervalo de medida, aunque se reduce la sensibilidad.

2. **Límite de detección:** valores por debajo de 7,4 mg/dL dan lugar a resultados poco reproducibles.

3. **Sensibilidad:** 7,5 mA / mg/dL.

4. **Efecto prozona:** No se observa hasta valores de 200 mg/dL.

5. **Precisión:** El reactivo ha sido probado durante 20 días con dos niveles diferentes de suero en un estudio basado en las normas EP5 (NCCLS).

EP5	CV (%)	
	17.85 mg/dl	35.93 mg/dl
Total	3.2%	3.5%
Within Run	0.8%	1%
Between Run	2.4%	2.4%
Between Day	2%	2.3%

6. **Exactitud:** El comportamiento de este método fue comparado con reactivos de referencia. Los resultados obtenidos no muestran diferencias significativas. Los detalles del estudio están disponibles bajo solicitud.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

Bilirrubina (hasta 25 mg/dL), no interfiere. La hemoglobina (≥ 9 g/L), lípidos (≥ 6 g/L) y factores reumatoideos (≥ 200 UI/mL), interfieren. Otras sustancias pueden interferir^{5,6}.

NOTAS

1. El diagnóstico clínico no debe realizarse únicamente con los resultados de un único ensayo, sino que debe considerarse al mismo tiempo los datos clínicos del paciente.

BIBLIOGRAFIA

- Clinical Guide to Laboratory Tests, Edited by NW Tietz W B Saunders Co., Philadelphia, 483, 1983.
- Pesce AJ and Kaplan, LA. Methods in Clinical Chemistry. The CV Mosby Company, St. Louis MO, 1987.
- Buller HR et al. Critical care Medicine 1982; 10: 311.
- Kauffman et al. Am J Med 1978; 65: 607.
- Frieg DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Pres, 1995.
- Young M and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Pres, 1997.

PRESENTACION

Ref.: 1102016	Cont.	R1. Diluyente: 1 x 40 mL
		R2. Anticuerpo: 1 x 10 mL

Détermination quantitative d'Antithrombine III (ATHROM-III) IVD

Conserver à 2 - 8°C.

USAGE RECOMMANDÉ

Essai turbidimétrique pour la quantification d'antithrombine III en sérum ou plasma humain.

PRINCIPE DE LA MÉTHODE

Les anticorps antithrombine III forment des composés insolubles quand ils sont associés avec l'antithrombine III de l'échantillon du patient, occasionnant un changement d'absorbance proportionnel à la concentration d'antithrombine III dans l'échantillon, et qui peut être quantifiée par comparaison avec un calibreux d'antithrombine III de concentration connue.

SIGNIFICATION CLINIQUE

L'antithrombine III est une protéine synthétisée dans le foie, normalement présente dans le plasma humain. Il s'agit du plus important inhibiteur de la thrombine, et il inhibe la coagulation et limite la formation de caillots sanguins. L'antithrombine III active d'autres composants de la cascade de coagulation (p. ex. facteur Xa), ainsi que la plasmine.

Le déficit d'antithrombine III peut causer ou conduire à la thrombose, la formation de caillots dans les vaisseaux sanguins. Les caillots qui se forment dans les extrémités inférieures et l'embolisme pulmonaire sont des exemples typiques. La déficience d'antithrombine III est généralement héréditaire et elle touche autant les hommes que les femmes. Tous les membres d'une même famille affectée par cette maladie devraient être contrôlés.

La déficience d'antithrombine III acquise peut apparaître comme résultat d'autres conditions telles que des maladies hépatiques, des traitements de chimiothérapie, ou l'usage de contraceptifs oraux.

RÉACTIFS

Diluant (R1)	Tampon tris 20 mmol/L, PEG 8000, pH, 8,3. Azoture de sodium 0,95 g/L.
Anticorps (R2)	Sérum de chèvre, antithrombine III humaine, pH 7,5. Azoture de sodium 0,95 g/L.
En option :	Réf : 1102003PROT CAL.

ÉTALONNAGE

Pour l'étalonnage il faut utiliser le PROT CAL. Le réactif (aussi bien monoréactif que biréactif) doit être recalibré chaque semaine, quand les contrôles sont en dehors des spécifications, et quand le lot de réactif ou la configuration de l'instrument change.

PRÉPARATION
Réactifs : Prêt à l'usage.

Courbe d'étalonnage : Préparer les dilutions suivantes du PROT CAL en ClNa 9 g/L comme diluant. Pour obtenir les concentrations de chaque dilution d'antithrombine III, multiplier la concentration d'antithrombine III du calibreux par le facteur correspondant indiqué dans le tableau :

Dilution calibreux	1	2	3	4	5	6
Calibreux (µL)	--	10	25	50	75	100
ClNa 9 g/L (µL)	100	90	75	50	25	-
Facteur	0	0.1	0.25	0.5	0.75	1.0

CONSERVATION ET STABILITÉ

Tous les composants du kit sont stables jusqu'à la date d'expiration quand les flacons sont gardés bien fermés à 2-8°C, et que la contamination est évitée au cours de leur utilisation. Ne pas utiliser de réactifs qui ont dépassé la date d'expiration.

Indicateurs de détérioration : Présence de particules et de turbidité.

Ne pas congeler, la congélation de l'anticorps ou du diluant peut affecter leur fonctionnalité.

MATÉRIEL SUPPLÉMENTAIRE

- Bain -marie à 37°C.

- Spectrophotomètre ou photomètre avec cuvette thermostable à 37°C pour des lectures à 340 nm (320-360 nm).

ÉCHANTILLONS

Sérum ou plasma frais, recueilli avec citrate sodique comme anticoagulants. Stable 7 jours à 2-8°C ou 3 mois à -20°C.

Ne pas utiliser d'échantillons fortement hémolysés ou lypémiques.

PROCÉDURE

1. Chauffer les réactifs et le photomètre (porte- cuvettes) à 37°C.

2. Conditions de l'essai :

Longueur d'onde : 340 nm

Température : 37°C

Passage de lumière de la cuvette : 1 cm

3. Ajuster le spectrophotomètre à zéro par rapport à l'eau distillée.

4. Introduire la pipette dans de la cuvette:

Réactif R1 (µL)	800
Échantillon ou calibreux (µL)	20

 5. Mélanger et lire l'absorbance (A_1) après l'ajout de l'échantillon.

6. Introduire la pipette dans la cuvette tout de suite après :

Réactif R2 (µL)	200
-----------------	-----

 7. Mélanger et lire l'absorbance (A_2) exactement 5 minutes après avoir ajouté le réactif R2.

Spinreact dispose d'adaptations détaillées pour la plupart des analyseurs automatiques du marché. Veuillez contacter votre distributeur pour obtenir des informations.
CALCULS

 Calculer la différence d'absorbances ($A_2 - A_1$) obtenues pour les différents calibreux, et construire la courbe d'étalonnage des valeurs obtenues par rapport aux concentrations d'antithrombine III de chaque dilution du calibreux. La concentration d'antithrombine III dans l'échantillon est calculée par interpolation de sa différence ($A_2 - A_1$) dans la courbe d'étalonnage.

CONTRÔLE DE QUALITÉ

Il est recommandé d'utiliser des sérums de contrôle, afin de contrôler les essais aussi bien lors de procédures manuelles qu'automatiques. Spinreact dispose du PROT CONTROL Réf : 1102004.

Chaque laboratoire doit établir son propre Contrôle de Qualité et des corrections en cas de non-conformité des contrôles en termes de tolérances exigées.

VALEURS DE RÉFÉRENCE

Entre 17 – 30 mg/dL. Chaque laboratoire devrait établir ses propres valeurs de référence.

CARACTÉRISTIQUES DE LA MÉTHODE

- Limite de linéarité :** jusqu'à 70 mg/dL dans les conditions décrites de l'essai. Les échantillons avec des valeurs supérieures doivent être dilués 1/5 avec ClNa 9 g/L et testés à nouveau. L'intervalle de mesure dépend du rapport échantillon/réactif. En réduisant le volume d'échantillon, on augmente la limite supérieure de l'intervalle de mesure, même si la sensibilité est réduite.
- Limite de détection :** les valeurs en dessous de 7,4 mg/dL entraînent des résultats peu reproductibles.
- Sensibilité :** 7,5 mA / mg/dL.
- Effet prozone :** Aucun effet prozone n'a été observé jusqu'à des valeurs de 200 mg/dL.
- Précision :** Le réactif a été testé pendant 20 jours avec deux niveaux de sérum différents dans une étude basée sur les normes EP5 (NCCLS).

EP5	CV (%)	
	17,85 mg/dL	35,93 mg/dL
Total	3,2%	3,5%
Pendant l'exécution	0,8%	1%
Entre l'exécution	2,4%	2,4%
Entre jours	2%	2,3%

- Exactitude :** Le comportement de cette méthode a été comparé avec des réactifs de référence. Les résultats obtenus ne montrent pas de différences significatives. Les détails de l'étude sont disponibles sur demande.

Les caractéristiques de la méthode peuvent varier selon l'analyseur utilisé.

INTERFÉRENCES

 Bilirubine (jusqu'à 25 mg/L), n'interfère pas. L'hémoglobine (≥ 9 g/L), lipides (≥ 6 g/L) et facteurs rhumatoïdes (≥ 200 UI/mL), interfèrent. D'autres substances peuvent interférer^{5,6}.

REMARQUES

- Le diagnostic clinique ne doit pas être réalisé uniquement avec les résultats d'un seul essai, mais doit également tenir compte des données cliniques du patient.

BIBLIOGRAPHIE

- Clinical Guide to Laboratory Tests, Edited by NW Tietz W B Saunders Co., Philadelphia, 483, 1983.
- Pesce AJ and Kaplan, LA. Methods in Clinical Chemistry. The CV Mosby Company, St. Louis MO, 1987.
- Buller HR et al. Critical care Medicine 1982; 10: 311.
- Kauffman et al. Am J Med 1978; 65: 607.
- Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Pres, 1995.
- Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Pres, 1997.

PRÉSENTATION

Réf : 1102016

Cont.

R1. Diluant : 1 x 40 mL

R2. Anticorps : 1 x 10 mL

Determinação quantitativa de Antitrombina III (ATHROM-III) IVD

Conservar a 2 – 8 °C.

USO RECOMENDADO

Ensaio turbidimétrico para a quantificação de antitrombina III no soro ou plasma humano.

PRINCÍPIO DO MÉTODO

Os anticorpos antitrombina III formam compostos insolúveis quando se combinam com a antitrombina III da amostra do doente, provocando uma alteração na absorvância proporcional à concentração de antitrombina III na amostra, e que pode ser quantificada por comparação com um calibrador de antitrombina III de concentração conhecida.

SIGNIFICADO CLÍNICO

A antitrombina III é uma proteína sintetizada no fígado, normalmente presente no plasma humano. É o inibidor mais importante da trombina, e inibe a coagulação e limita a formação de coágulos sanguíneos. A antitrombina III ativa outros componentes da cascada de coagulação (por ex., fator Xa), assim como a plasmína.

A deficiência de antitrombina III pode causar ou levar a trombose, a formação de coágulos nos vasos sanguíneos. Os coágulos que se formam nas extremidades inferiores e na embolia pulmonar são exemplos típicos. A deficiência de antitrombina III é normalmente hereditária e afeta tanto homens como mulheres. Todos os membros de uma mesma família afetada por esta doença deveriam ser monitorizados.

A deficiência de antitrombina III adquirida pode aparecer como resultado de outras condições tais como doenças hepáticas, tratamentos de quimioterapia ou utilização de contraceptivos orais.

REAGENTES

Solvente (R1)	Tampão tris 20 mmol/L, PEG 8000, pH, 8,3. Azida sódica 0,95 g/L.
Anticorpo (R2)	Soro de cabra, anti-antitrombina III humana, pH 7,5. Azida sódica 0,95 g/L.
Opcional:	Ref: 1102003PROT CAL.

CALIBRAÇÃO

Deve utilizar-se o PROT CAL para a calibração. O reagente (tanto monoreativo como bireativo) deve ser recalibrado a cada três semanas, quando os controles estiverem fora de especificação e quando o lote de reagente ou a configuração do instrumento muda.

PREPARAÇÃO

Reagentes: Prontos a utilizar.

Curva de Calibração: Preparar as diluições seguintes de PROT CAL em NaCl 9 g/L como solvente. Para obter as concentrações de cada diluição de antitrombina III, multiplicar a concentração de antitrombina III do calibrador pelo fator correspondente indicado na tabela:

Diluição do calibrador	1	2	3	4	5	6
Calibrador (µL)	--	10	25	50	75	100
NaCl 9 g/L (µL)	100	90	75	50	25	-
Fator	0	0,1	0,25	0,5	0,75	1,0

CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE

Todos os componentes do kit são estáveis até à data de validade indicada no rótulo do frasco quando os frascos são mantidos bem fechados a 2 - 8 °C e se evita a contaminação durante a sua utilização. Não utilizar reagentes que tenham excedido a data de validade indicada.

Indicadores de degradação: Presença de partículas e turvação.

Não congelar; a congelação do Anticorpo ou Solvente pode afetar a sua funcionalidade.

MATERIAL ADICIONAL

- Banho de água a 37 °C.
- Espectrofotómetro ou fotómetro com cubete termostaticável a 37 °C para leituras a 340 nm (320 - 360 nm).

AMOSTRAS

Soro ou plasma fresco, recolhido com citrato de sódio como anticoagulantes. Estável durante 7 dias a 2 – 8 °C ou durante 3 meses a -20 °C.

Não utilizar amostras altamente hemolizadas ou lipémicas.

PROCEDIMENTO

- Aquecer os reagentes e o fotómetro (porta-cubetes) a 37 °C.
- Condições do ensaio:
 - Comprimento de onda: 340 nm
 - Temperatura: 37 °C
 - Caminho de luz da cubete: 1 cm
- Ajustar o espectrofotómetro a zero com água destilada.
- Pipetar numa cubete:

Reagente R1 (µL)	800
Amostra ou Calibrador (µL)	20

- Misturar e ler a absorvância (A₁) após a adição da amostra.
- Imediatamente depois, pipetar na cubete:

Reagente R2 (µL)	200
------------------	-----

- Misturar e ler a absorvância (A₂) exatamente 5 minutos após adicionar o reagente R2.

A Spinreact dispõe de adaptações detalhadas para a maioria dos analisadores automáticos do mercado. Solicite a informação ao seu distribuidor.

CÁLCULOS

Calcular a diferença de absorvâncias (A₂ - A₁) obtidas para os diferentes calibradores e construir a curva de calibração dos valores obtidos comparativamente às concentrações de antitrombina III de cada diluição do calibrador. A concentração de antitrombina III na amostra é calculada por interpolação da sua diferença (A₂- A₁) na curva de calibração.

CONTROLO DE QUALIDADE

Recomenda-se utilizar soros controlo para controlar os ensaios tanto no procedimento manual como automático. A Spinreact dispõe do PROT CONTROL Ref: 1102004.

Cada laboratório deve dispor do seu próprio Controlo de Qualidade e estabelecer ações corretivas no caso de os controlos não estarem de acordo com as tolerâncias aceitáveis.

VALORES DE REFERÊNCIA

Entre 17 – 30 mg/dL. Recomenda-se que cada laboratório estabeleça os seus próprios valores de referência.

CARACTERÍSTICAS DO MÉTODO

- Intervalo de medição:** até 70 mg/dL nas condições descritas do ensaio. As amostras com valores superiores devem ser diluídas 1/5 com NaCl 9 g/L e serem ensaiadas novamente. O intervalo de medição depende da proporção amostra/reagente. Diminuindo o volume da amostra, aumenta-se o limite superior do intervalo de medição, embora se reduza a sensibilidade.
- Limite de deteção:** valores inferiores a 7,4 mg/dL originam resultados pouco reprodutíveis.
- Sensibilidade:** 7,5 mA / mg/dL.
- Efeito prozona:** não se observa até valores de 200 mg/dL.
- Precisão:** o reagente foi testado durante 20 dias com três níveis diferentes de soro num estudo baseado nas normas EP5 (NCCLS).

EP5	CV (%)	
	17,85 mg/dL	35,93 mg/dL
Total	3,2%	3,5%
Within Run	0,8%	1%
Between Run	2,4%	2,4%
Between Day	2%	2,3%

- Exatidão:** o comportamento deste método foi comparado com reagentes de referência. Os resultados obtidos não apresentam diferenças significativas. Os detalhes do estudo estão disponíveis a pedido.

As características do método variam de acordo com o analisador utilizado.

INTERFERÊNCIAS

Bilirrubina (até 25 mg/dL), não interfere. A hemoglobina (≥ 9 g/L), lípidos (≥ 6 g/L) e fatores reumatóides (≥ 200 UI/mL), interferem. Outras substâncias podem interferir ^{5,6}.

NOTAS

- O diagnóstico clínico não deve realizar-se unicamente através dos resultados de um único ensaio, devendo considerar-se em simultâneo os dados clínicos do doente.

BIBLIOGRAFIA

- Clinical Guide to Laboratory Tests, Edited by NW Tietz W B Saunders Co., Philadelphia, 483, 1983.
- Pesce AJ and Kaplan, LA. Methods in Clinical Chemistry. The CV Mosby Company, St. Louis MO, 1987.
- Buller HR et al. Critical care Medicine 1982; 10: 311.
- Kauffman et al. Am J Med 1978; 65: 607.
- Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Pres, 1995.
- Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Pres, 1997.

APRESENTAÇÃO

Ref.: 1102016	Cont.	R1. Solvente: 1 x 40 mL R2. Anticorpo: 1 x 10 mL
---------------	-------	---