

Antithrombin III

Turbidimetry

Quantitative determination of Antithrombin III (ATHROM-III) IVD

Store at 2-8°C

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

| | |
|------------------------|---|
| R 1 Diluent | Tris buffer 20 mmol/L, PEG 8000, pH, 8.3. Sodium azide 0,95 g /L. |
| R 2 Antibody | 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 CIna 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 |
| CIna 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

- Spinlab 180 autoanalyzer
- Laboratory equipment.

SPINLAB 180 APPLICATION

| | | | |
|-----------------|------------------|------------------|-------------|
| Name | Antithrombin III | Ref. male low | 17.00 mg/dL |
| Abbr. Name | AT-III | Ref. male high | 30.00 mg/dL |
| Mode | Twopoints | Ref. female low | 17.00 mg/dL |
| Wavelength | 340 nm | Ref. female high | 30.00 mg/dL |
| Units | mg/dL | Ref. Ped. Low | * |
| Decimals | 2 | Ref. Ped. High | * |
| Low Conc. | 7.40 mg/dL | Control 1 | * |
| High Conc. | 70.00 mg/dL | Control 2 | * |
| Calibrator name | SP CAL | Control 3 | * |
| Prozone check | No | Correlat. factor | 1.000 |
| | | Correlat. offset | 0.000 |

DUAL MODE

| | |
|---------------------|-------------|
| Sample blank | No |
| R1 bottle (mL) | 25 mL |
| normal volume | 240 µL |
| rerun volume | 240 µL |
| Sample | |
| normal volume | 6.0 µL |
| rerun volume | 6.0 µL |
| R2 bottle (mL) | 5 mL |
| normal volume | 60 µL |
| rerun volume | 60 µL |
| Predilución | No |
| Slope blank | No |
| Point one,two | -3.236 sec. |
| Reagent blank | No |
| Low Absorbance | -0.100 Abs |
| High Absorbance | 3.000 Abs |
| R. Abs. L. Limit | -0.100 Abs |
| R. Abs. H. Limit | 3.000 Abs |
| Substr.Depletion | 3.000 Abs |

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.

REFERENCE VALUES

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

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.

NOTES

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

PRESENTATION

| | | |
|----------------|-------|---------------|
| Ref: SP1102014 | Cont. | R1: 2 x 20 mL |
| | | R2: 2 x 5 mL |

Antitrombina III

Turbidimetría

Determinación cuantitativa de Antitrombina III (ATHROM-III) IVD

Conservar a 2-8°C

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 plasmína.

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

| | |
|--------------------------|--|
| R 1 Diluyente | Tampón tris 20 mmol/L, PEG 8000, pH, 8,3. Azida sódica 0,95 g/L. |
| R 2 Anticuerpo | Suero de cabra, anti-antitrombina III humana, pH 7,5. Azida sódica 0,95 g/L. |
| Opcional | Ref: 1102003 PROT CAL. |

CALIBRACIÓN

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 ClNa 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 |
| ClNa 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: Presencia de partículas y turbidez.

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

MATERIAL ADICIONAL

- Autoanalizador Spinlab 180
- Equipamiento habitual de laboratorio.

APLICACIÓN AL SPINLAB 180

| | | | |
|-----------------------|------------------|-------------------|-------------|
| Nombre | Antitrombina III | Ref. Hombre Inf. | 17.00 mg/dL |
| Nombre abreviado | AT-III | Ref. Hombre Sup. | 30.00 mg/dL |
| Modo | Twopoint | Ref. Mujer Inf. | 17.00 mg/dL |
| Long. ondas | 340 nm | Ref. Mujer Sup. | 30.00 mg/dL |
| Unidades | mg/dL | Ref. Ped. Inf. | * |
| Decimales | 2 | Ref. Ped. Sup. | * |
| Conc. Inferior | 7.40 mg/dL | Control 1 | * |
| Conc. Superior | 70.00 mg/dL | Control 2 | * |
| Calibrador | CAL PS | Control 3 | * |
| Chequeo prozona | No | Factor correl. | 1.000 |
| | | Offset de correl. | 0.000 |
| MODO DUAL | | | |
| Blanco muestra | No | | |
| Frasco R1 (mL) | 25 mL | | |
| Vol. normal | 240 µL | | |
| Vol. repet. | 240 µL | | |
| Muestra | | | |
| Vol. normal | 6.0 µL | | |
| Vol. repet. | 6.0 µL | | |
| Frasco R2 (mL) | 5 mL | | |
| Vol. normal | 60 µL | | |
| Vol. repet. | 60 µL | | |
| Predilución | No | | |
| Pendiente Blco. | No | | |
| 1er, 2º punto | -3.236 sec. | | |
| Blanco reactivo | No | | |
| Absorbancia inf. | -0.100 Abs | | |
| Absorbancia sup. | 3.000 Abs | | |
| Lim. Inf. Abs. React. | -0.100 Abs | | |
| Lim. Sup. Abs. React. | 3.000 Abs | | |
| Agotam. sustrato | 3.000 Abs | | |

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.

VALORES DE REFERENCIA

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

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.

NOTAS

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

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.*

PRESENTACION

Ref: SP1102014 Cont. R1: 2 x 20 mL
R2: 2 x 5 mL