

## Antithrombin III

Diagnostic reagent for the quantitative in vitro determination of Antithrombin III (ATIII) in human plasma by turbidimetric assay

### REF

### Content

**A00510** 1x 10 mL ATIII Antibody Reagent  
 5x 25 mL PEG6 Buffer

Additionally offered:

A00580 1x 1 mL Protein Calibrator High  
 A00703 1x 5 mL Protein Calibrator High  
 A00701 1x 1 mL Protein Calibrator Low  
 A00702 1x 5 mL Protein Calibrator Low  
 A00590 1x 1 mL Protein Control  
 A00800 1x 5 mL Protein Control  
 A08591 1x 1 mL Protein Control Low  
 A08823 1x 5 mL Protein Control Low

### GENERAL INFORMATION

**Method** Immunoturbidimetric  
**Reaction** Nonlinear, endpoint  
**Wavelength** 340 nm  
**Assay Temperature** 18 – 37 °C  
**Sample** Plasma  
**Measuring Range** approx. 0 – 65 mg/dL  
**Sensitivity** 8 mg/dL  
**Hook Effect** with sample dilution: > 300 mg/dL  
**Manual Test Procedure** Tests/Kit\*  
 with sample dilution 166

### Automated Test Procedure

Instrument dependent – please ask for applications

\* calculated on amount of antibody reagent; additional buffer on request

### REAGENT COMPOSITION

COMPONENTS	FINAL CONCENTRATION
<b>Antithrombin III Antibody Reagent</b>	
Turbidimetric grade antibody raised in the goat, monospecific for ATIII	variable
Sodium azide	0.095 %
<b>PEG6 Buffer</b>	
Phosphate buffered saline	
PEG	6 %
Sodium azide	0.095 %

### REAGENT PREPARATION

The reagents are liquid and ready to use.

### REAGENT STABILITY AND STORAGE

Conditions: Protect from light. Close immediately after use.  
 Stability: at 2 – 8 °C up to the expiration date  
 at 18 – 25 °C 1 month

Do not freeze!

### SAMPLE STABILITY AND STORAGE

Stability: at 2 – 8 °C 1 week  
 at – 20 °C 3 months

Freeze only once!

### MANUAL TEST PROCEDURE

#### Test Procedure with Sample Dilution:

Sample/ Control: dilute 1:10 in saline 0.9%

Calibration curve: Use Protein Calibrator High to generate a calibration curve by making 1:10, 1:20, 1:40, 1:80 and 1:160 dilutions with 0.9% saline as diluent. Use 0.9% saline as zero point.

Pipette into test tubes	Calibrators	Samples/Controls
Buffer	900 µL	900 µL
Cal./Ctrls/Samples	100 µL	100 µL
Mix. Read A1 of calibrators and samples/controls at 340 nm. Then add:		
Antibody Reagent	60 µL	60 µL
Mix. Incubate 5 minutes at assay temperature. Read A2 of calibrators and samples/controls at 340 nm. Calculate: $\Delta A = (A2 - A1)$		

### CALCULATION

Calculate and plot  $\Delta A = (A2 - A1)$  of the calibrators versus assigned concentration values on a linear-linear graph paper. Calculate  $\Delta A$  optical densities of samples and control(s) and read values in mg/dL on the reference curve. Samples yielding absorbances above highest calibrator should be retested after further dilution.

### REFERENCE RANGE

22 – 39 mg/dL

It is recommended that each laboratory establishes its own normal range.

### TEST PRINCIPLE

The assay of Antithrombin III is based on turbidimetric measurement. Turbidity is caused by the formation of antigen-antibody insoluble immuno complexes. The formation of the complexes is accelerated and enhanced by PEG.

### DIAGNOSTIC IMPLICATIONS

ATIII is an inhibitor of thrombin, Factor Xa or Factor VIIa. There is more ATIII in blood than prothrombin; blood is able to clot only because the reaction of the inhibitor with thrombin is much slower than the action of thrombin on fibrinogen. The reactivity of ATIII is regulated by combination with its activator heparin. Decreased levels of ATIII are found in nephrotic syndrome, DIC, deep vein thrombosis, hypercoagulability syndrome, oral contraceptives, pulmonary embolism, direct hepatotoxicity, extra-corporeal circulation and L-asparaginase administration.

### PERFORMANCE CHARACTERISTICS

#### SENSITIVITY

8 mg/dL (Cobas Mira)

#### ACCURACY

Controls are assayed in duplicate on Cobas Mira.

Control	Assigned Value (mg/dL)	Measured Value (mg/dL)
Biorad 1	17 (14 – 21)	20
Biorad 2	47 (38 – 57)	51

### PRECISION

#### Intra-Assay Precision

The Antithrombin III concentration (mg/dl) of 3 unknown serum samples was measured and the variation coefficient determined.

Concentration	n	Mean (mg/dL)	S.D.	C.V
Low	20	17.81	0.51	2.84
Medium	20	34.95	0.71	2.04
High	19	251.74	2.55	4.93

### INTERFERING SUBSTANCES

No interference up to:

Sodium-Citrate	1000 mg/dL	Hemoglobin	1000 mg/dL
Triglycerides	2500 mg/dL	Heparin	50 mg/dL
Bilirubin	20 mg/dL		

### QUALITY CONTROL

All Control sera with Antithrombin III values measured by this method may be used. We recommend the Dialab Protein Control and the Protein Control Low.

### CALIBRATION

The assay requires the use of Antithrombin III serum Calibrators. We recommend the Dialab Protein Calibrator High or the Protein Calibrator Low.

### AUTOMATION

Applications for automated systems (with and without sample dilution) are available upon request.

### WARNINGS AND PRECAUTIONS

- The Antithrombin III reagents are intended for in vitro diagnostic use only.
- Sodium azide has been reported to form lead or copper azide in laboratory plumbing which may explode on percussion.
- Each donor unit used in the preparation of the standards and controls was found to be negative for the presence of HIV antibodies, as well as for Hepatitis B surface antigen, using a method approved by the FDA

### WASTE MANAGEMENT

Please refer to local requirements.

### REFERENCES

- Stathakis. N.E., Acta Haematol. (Basel), 57, 47 (1977)
- Davie, E.W. and K. Fujikawa, Annu. Rev. Biochem. 44, 799 (1975)



# Antithrombin III

Diagnostisches Reagenz für den quantitativen Nachweis von Antithrombin III (ATIII) in Humanplasma mittels turbidimetrischer Methode

## REF

## Inhalt

**A00510** 1x 10 mL ATIII Antikörperreagenz  
 5x 25 mL PEG6 Puffer

Zusätzlich wird angeboten:

A00580 1x 1 mL Protein Kalibrator Hoch  
 A00703 1x 5 mL Protein Kalibrator Hoch  
 A00701 1x 1 mL Protein Kalibrator Niedrig  
 A00702 1x 5 mL Protein Kalibrator Niedrig  
 A00590 1x 1 mL Protein Kontrolle  
 A00800 1x 5 mL Protein Kontrolle  
 A08591 1x 1 mL Protein Kontrolle Niedrig  
 A08823 1x 5 mL Protein Kontrolle Niedrig

## ALLGEMEINE INFORMATION

**Methode:** Immunturbidimetrisch  
**Reaktion:** Nicht-linear, Endpunkt  
**Wellenlänge:** 340 nm  
**Testtemperatur:** 18 – 37 °C  
**Probe:** Plasma  
**Messbereich:** ca. 0 – 65 mg/dL  
**Sensitivität:** 8 mg/dL  
**Hook-Effekt:** mit Probenverdünnung: > 300 mg/dL

**Manuelle Testdurchführung Tests/Kit\***  
 mit Probenverdünnung 166

**Automatische Testdurchführung**  
 Instrumentenabhängig - Applikationen auf Anfrage

\* berechnet aufgrund der Menge des Antikörperreagenz; zusätzlicher Puffer auf Anfrage

## REAGENZENZUSAMMENSETZUNG

### KOMPONENTEN ENDKONZENTRATION

**Antithrombin III Antikörperreagenz**  
 Turbidimetrisch-Grade-Antikörper aus der Ziege, monospezifisch für ATIII variabel  
 Natriumazid 0.095 %

### PEG6 Puffer

Phosphat-gepufferte Kochsalzlösung  
 PEG 6 %  
 Natriumazid 0.095 %

## REAGENZENVORBEREITUNG

Die Reagenzien sind gebrauchsfertig.

## REAGENZSTABILITÄT UND -LAGERUNG

**Bedingungen:** Vor Licht schützen. Nach Verwendung sofort verschließen.  
**Haltbarkeit:** bei 2 – 8 °C bis zum Verfallsdatum  
 bei 18 – 25 °C 1 Monat

Nicht einfrieren!

## PROBENSTABILITÄT UND -LAGERUNG

**Haltbarkeit:** bei 2 – 8 °C bis zu 1 Woche  
 bei – 20 °C 3 Monate

Nur einmal einfrieren!

## MANUELLE TESTDURCHFÜHRUNG

### Testdurchführung mit Probenverdünnung:

Proben/Kontrollen: 1:10 mit 0.9% Kochsalzlösung verdünnen  
 Kalibrationskurve: mit dem Protein Kalibrator Hoch eine Kalibrationskurve erstellen. Dazu eine 1:10, 1:20, 1:40, 1:80 und 1:160 Verdünnung mit 0,9 % Kochsalzlösung herstellen. 0,9 % Kochsalzlösung als Nullpunkt verwenden.

In Küvetten pipettieren	Kalibratoren	Proben/Kontrollen
Puffer	900 µL	900 µL
Kal./Ktrl./Proben	100 µL	100 µL
Mischen. A1 der Kalibratoren und Proben/Kontrollen bei 340 nm ablesen. Dann zufügen:		
Antikörperreagenz	60 µL	60 µL
Mischen. 5 min. bei Testtemperatur inkubieren. A2 der Kalibratoren und Proben/Kontrollen bei 340 nm ablesen.		

## BERECHNUNG

Das  $\Delta A = (A_2 - A_1)$  jedes Kalibrators berechnen und gegen die angegebenen Konzentration auf einem linearen Millimeterpapier auftragen. Die  $\Delta A$  optischen Dichten von Proben und Kontrolle(n) berechnen und die Werte in mg/dL auf der Referenzkurve ablesen. Proben mit Absorptionen über dem höchsten Kalibrator sollten nach Verdünnung nochmals getestet werden.

## REFERENZBEREICH

22 – 39 mg/dL  
 Jedes Labor sollte wenn möglich seinen eigenen Normalbereich ermitteln.

## TESTPRINZIP

Dieser Test für Antithrombin III basiert auf turbidimetrischer Messung. Durch Bildung von unlöslichen Antigen-Antikörper Immuno-Komplexen kommt es zu einer Trübung. Die Bildung dieser Komplexe wird durch PEG beschleunigt und verbessert.

## DIAGNOSTISCHE BEDEUTUNG

ATIII ist ein Inhibitor für Thrombin, Faktor Xa und VIIa. Die Blutwerte für ATIII sind höher als für Prothrombin; Blut gerinnt nur dann, wenn die Reaktion des Inhibitors mit Thrombin um Vieles langsamer abläuft als die Reaktion von Thrombin mit Fibrinogen. Die Reaktivität von ATIII wird durch Kombination mit dessen Aktivator Heparin reguliert. Erniedrigte ATIII Werte findet man bei: nephrotischem Syndrom, DIC, tiefer Venenthrombose, Hyperkoagulations-syndrom, oralen Kontrazeptiva, Lungenembolie, direkter Lebertoxizität, extrakorporaler Zirkulation und L-Asparaginase-Verabreichung.

## LEISTUNGSMERKMALE

### SENSITIVITÄT

8 mg/dL (Cobas Mira)

### GENAUIGKEIT

Kontrollen wurden in Doppelbestimmen auf dem Cobas Mira getestet.

Kontrolle	Bestimmter Wert (mg/dL)	Gemessener Wert (mg/dL)
Biorad 1	17 (14 – 21)	20
Biorad 2	47 (38 – 57)	51

## PRÄZISION

### Präzision innerhalb der Serie

Die Antithrombin III Konzentration (mg/dl) von 3 unbekanntem Serumproben wurde gemessen und der Variationskoeffizient bestimmt.

Konzentration	n	Mittelwert (mg/dL)	S.D.	C.V
Niedrig	20	17.81	0.51	2.84
Mittel	20	34.95	0.71	2.04
Hoch	19	251.74	2.55	4.93

## STÖRENDE SUBSTANZEN

Keine Interferenzen bis:

Natrium-Citrat 1000 mg/dL Hämoglobin 1000 mg/dL  
 Triglyceride 2500 mg/dL Heparin 50 mg/dL  
 Bilirubin 20 mg/dL

## QUALITÄTSKONTROLLE

Alle Kontrollseren, bei denen Antithrombin III mit dieser Methode gemessen wurde, können verwendet werden. Wir empfehlen die Dialab Protein Kontrolle und die Protein Kontrolle Niedrig.

## KALIBRATION

Für diesen Test werden Antithrombin III Serumkalibratoren benötigt. Wir empfehlen den Dialab Protein Kalibrator Hoch oder den Protein Kalibrator Niedrig.

## AUTOMATISIERUNG

Applikationen für automatisierte Systeme (mit und ohne Probenverdünnung) sind auf Anfrage erhältlich.

## WARNUNGEN UND VORSICHTSMASSNAHMEN

- Die Antithrombin III Reagenzien sind nur für die In-Vitro-Diagnostik.
- Natriumazid bildet Blei- oder Kupferazide in Laborleitungen, was bei Erschütterung zu Explosionen führen kann.
- Jede Spendereinheit, die für die Herstellung der Standards und Kontrollen verwendet wurde, wurde negativ auf HIV-Antikörper und Hepatitis B Oberflächen-Antigen unter Verwendung einer FDA-geprüften Methode getestet

## ABFALLENTSORGUNG

Die lokalen Bestimmungen sind zu beachten.

## BIBLIOGRAPHIE

- Stathakis, N.E., Acta Haematol. (Basel), 57, 47 (1977)
- Davie, E.W. and K. Fujikawa, Annu. Rev. Biochem.44, 799 (1975)

