

Coagnos® Antithrombin Xa

GB

INTENDED PURPOSE:

The Coagnos® Antithrombin Xa kit is intended for carrying out chromogenic based haemostasis assays in human plasma. The Coagnos® Antithrombin Xa kit is indicated for professional use only.

AT-III is a major inhibitor of blood coagulation, acting to inhibit plasma serine proteases including factors IXa, Xa, XIa, and thrombin. The rate of the inhibition is significantly increased in the presence of heparin. AT-III deficiency may be congenital or acquired and is associated with an increased risk for thrombosis¹⁻³. Deficiencies may occur in liver disease, disseminated intravascular coagulation (DIC), septicemia, pulmonary embolism, nephrotic syndrome, stroke, and thrombophlebitis^{2,3}. Most functional assays for AT-III rely on the ability of plasma to inactivate thrombin in the presence of heparin, such as the assay described by Odegard et al⁴. More recently, it has been shown that a method based on the ability of plasma to inhibit factor Xa in the presence of heparin may be more accurate, since it eliminates interference due to heparin cofactor II⁵ which does not inhibit factor Xa⁶. In the present two-stage method, factor Xa is added to a plasma dilution containing AT-III in the presence of excess heparin and calcium. After an initial incubation period (stage 1), residual factor Xa is determined with a factor Xa-specific chromogenic substrate (stage 2). The residual factor Xa activity is inversely proportional to the AT-III concentration. The Analyticon Biotechnologies AG Coagnos® Antithrombin Xa kit is intended for the quantitative determination of antithrombin III (AT-III) activity in human citrated plasma by chromogenic assay.

WARNINGS AND PRECAUTIONS:

The reagents contained in this kit are for in vitro diagnostic use only – DO NOT INGEST. Wear appropriate personal protective equipment when handling all kit components. The material safety data sheet is available for download from our homepage <http://www.analyticon-diagnostics.com>. Dispose of components in accordance with local regulations. In case any serious incident has occurred in relation to the device, please report to the manufacturer and, if applicable, to the competent authority of the country in which the users and/or the patients established themselves.

COMPOSITION:

Component	Content	Description	Preparation
Factor Xa	5 x 2 mL	Contains freeze-dried bovine factor Xa.	Reconstitute each vial with 2 mL of distilled / deionised water. Allow to stand for 10 minutes and mix well before use.
Factor Xa Substrate	5 x 2 mL	Contains freeze-dried CH3OCO-D-CHAGly-Arg-pNA•AcOH.	Reconstitute each vial with 2 mL of distilled / deionised water. Allow to stand for 10 minutes and mix well before use.
Sample Diluent	5 x 3 mL	Contains 5x buffer concentrate with sodium azide at 0.1% as preservative. When fully diluted, buffer contains 0.05 M Tris-HCl, 0.175 M NaCl, 7.5 mM Na ₂ EDTA and sodium heparin at pH 8.4.	Dilute 1 + 4 with distilled / deionised water and mix well.

ITEMS REQUIRED BUT NOT PROVIDED:

Coagulation instrument or spectrophotometer operable at 405 nm.

Depending on Assay Method Used:

- REF CG0370 Coagnos® Calibration Plasma
- Glacial acetic acid
- +37°C water bath or dry bath
- Laboratory timer

STORAGE, SHELF-LIFE AND STABILITY:

Unopened vials are stable until the given expiry date when stored under conditions indicated on the vial or kit label.

Factor Xa	Reconstituted reagent is stable for 2 months at +2 →+8°C, 1 month at +17°C or 2 days at +37°C.
Factor Xa Substrate	Reconstituted reagent is stable for 2 months at +2 →+8°C, 1 month at +17°C or 7 days at +37°C.
Sample Diluent	Store diluted buffer in a tightly stoppered bottle at +2 →+8°C and use within one month.

SAMPLE COLLECTION AND PREPARATION:

Plastic or siliconised glass should be used throughout. Blood (9 parts) should be collected into 3.2% or 3.8% sodium citrate anticoagulant (1 part). Separate plasma after centrifugation at 1500 x g for 15 minutes. Plasma should be kept at +2 →+8 °C or +18 →+24 °C. Testing should be completed within 4 hours of sample collection, or plasma can be stored frozen at -20 °C for 2 weeks or -70 °C for 6 months. Thaw quickly at +37 °C prior to testing. Do not keep at +37 °C for more than 5 minutes⁷.

PROCEDURE:

Preparation of Standard (REF CG0370), Control and Patient Dilutions:

%AT-III	Plasma	Dilution Buffer
100%	10 µL Standard	990 µL
50%	500 µL of 100% Std	500 µL
25%	500 µL of 50% Std	500 µL
12.5%	500 µL of 25% Std	500 µL
Patient or Control	10 µL Plasma	990 µL

A. Semi-Micro Endpoint Method

- Add 200 µL standard / control or patient plasma dilution to a test tube.
- Incubate at +37°C for 2-4 minutes.
- Add 200 µL Factor Xa Reagent and mix.
- Incubate at +37°C for EXACTLY 1 minute.
- Add 200 µL Factor Xa Substrate and mix.
- Incubate at +37°C for EXACTLY 3 minutes.
- Add 200 µL acetic acid (50%) and mix.
- * Add 200 µL water (optional).

The yellow colour of the final reaction product is stable for at least 4 hours. Read absorbance at 405 nm in a 1 cm semi-micro cuvette against a blank prepared in the following order:

- 200 µL acetic acid.
- 200 µL standard dilution.
- 200 µL Factor Xa reagent.
- 200 µL Factor Xa Substrate.
- * 200 µL water (optional).

* Some spectrophotometers require a minimum of 1 mL volume in the cuvette. If the patient plasma is very icteric, a second blank containing patient plasma dilution instead of standard dilution should be prepared and the absorbance subtracted from the absorbance obtained for the patient's AT-III determination. As many as ten determinations can be performed simultaneously with the same stop watch by staggering pipetting steps at five second intervals.

B. Kinetic Method

A kinetic analyser may be used to measure the initial rate of hydrolysis of the chromogenic substrate. The procedure to be used is as follows:

To a reaction cuvette:

- Add 200 µL diluted standard or patient plasma.
- Incubate at +37°C for 1 minutes.
- Add 200 µL Factor Xa reagent and mix.
- Incubate at +37°C for 1 minute.
- Add 200 µL Factor Xa Substrate.
- Measure rate of change of absorbance at 405 nm for 1 minute.

INTERPRETATION OF RESULTS:

a) Assay Calibration

A commercially prepared plasma standard in which AT-III has been determined eg. Analyticon Biotechnologies AG Coagnos® Calibration Plasma (REF CG0370) should be used as a reference.

b) Calibration Curve

Plot the absorbance obtained with each of the AT-III calibration standards on the y-axis against % AT-III on the x-axis using linear graph paper. The line of best fit should be determined by linear regression analysis. The AT-III in plasma samples can be determined by interpolation from the calibration curve. The AT-III concentration in the patient specimen should be adjusted for the AT-III concentration in the standard:

$$\% \text{ AT-III (adjusted) } = \% \text{ AT-III (patient) } \times \% \text{ AT-III (standard) } / 100$$

LIMITATIONS:

Avoid icteric, lipaemic, and haemolysed samples. To ensure reproducible results, use accurate pipetting devices and observe recommended procedures with emphasis on incubation times and temperature.

QUALITY CONTROL:

Each laboratory should establish a quality control program. Normal and abnormal control plasmas should be tested prior to each batch of patient samples, to ensure satisfactory instrument and operator performance. If controls do not perform as expected, patient results should be considered invalid. Analyticon Biotechnologies AG supply the following controls available for use with this product:

REF CG0351	Coagnos® Routine Control N
REF CG0352	Coagnos® Routine Control P
REF CG0361	Coagnos® Special Control N
REF CG0362	Coagnos® Special Control P

REFERENCE VALUES:

Reference values can vary between laboratories depending on the techniques and systems in use. For this reason each laboratory should establish its own normal range. The normal range of AT-III is 75-125% in plasma. Plasma activity levels of 30-60% can be observed in patients with hereditary AT-III deficiency^{1,2}. Several clinical conditions associated with acquired AT-III deficiency include: liver disease, DIC, nephrotic syndrome, pulmonary embolism, stroke, and thrombophlebitis. In addition, oral contraceptive use may lead to reduced AT-III levels².

REF: CG0381

PERFORMANCE CHARACTERISTICS:

The following performance characteristics have been determined by Analyticon Biotechnologies AG or their representatives using a Coagulyzer® Auto Pro instrument. Each laboratory should establish its own performance data.

Precision

Precision was performed according to CLSI guideline EP05-A3: Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline – Third Edition, 2008.

Sample	Mean	Repeatability		Within-device	
		SD	CV [%]	SD	CV [%]
Antithrombin Xa Concentration [%]	98.6	6.19	6.28	7.06	7.16
	41.5	4.22	10.18	6.97	16.81
	34.4	4.03	11.73	6.26	18.21

Linearity

The method is designed to give a linear standard curve from 2.9 – 134.8 % Antithrombin Xa.

Interferences










Coagnos® Antithrombin Xa is insensitive to Heparin levels of up to 3 U/ml. Using a 5% interference threshold, there is no significant interference from Haemoglobin at concentrations up to 1000 mg/dL. Using a 5% interference threshold, there is no significant interference from Bilirubin at concentrations up to 29 mg/dL for Coagnos® Antithrombin Xa. Lipid interference testing demonstrates that lipid levels do not directly affect the clot time of the reagent up to 672 mg/dL.

Method comparison

Comparison of AT-III concentration [%] were determined using Coagnos® Antithrombin Xa on Coagulyzer® Auto Pro and Siemens® Antithrombin with INNOVANCE® Antithrombin on a Sysmex® CS-5100 system on 104 samples. The following correlations were obtained:

$$\text{Coagnos® Antithrombin Xa [\%]} = 0.885x - 5.241 \quad r^2 = 0.98 \quad n = 104$$

SYMBOLS

	In vitro diagnostics product
	The product complies with European legislation
	Follow the instructions for use !
	Use by
	Permitted storage temperature range
	Read warnings and precautions in instructions for use !
	Batch identification number
	Item number
	Manufacturer

Coagnos® Antithrombin Xa

ES

USO PREVISTO:

El uso previsto del kit Coagnos® Antithrombin Xa es realizar ensayos de hemostasia basados en la cromogenia en plasma humano. Coagnos® Antithrombin Xa está indicada únicamente para uso profesional.

La AT-III es el mayor inhibidor de la coagulación sanguínea, que actúa inhibiendo las proteasas de la serina del plasma incluidos los factores IXa, Xa, XIa y trombina. La tasa de inhibición aumenta significativamente en presencia de heparina. El déficit en AT-III puede ser congénito o adquirido y se asocia a aumento de riesgo de trombosis¹⁻³. Pueden producirse deficiencias en las hepatopatías, la coagulación intravascular diseminada (CID), la septicemia, la embolia pulmonar, el síndrome nefrótico, el ictus y la tromboflebitis^{2,3}. La mayoría de los estudios funcionales de AT-III dependen de la capacidad del plasma para inactivar la trombina en presencia de heparina, como ocurre en el estudio descrito por Odegard et al⁴. Estudios más recientes han demostrado que puede ser más preciso un método basado en la capacidad del plasma para inactivar el factor Xa, ya que elimina la interferencia debida al cofactor II⁵ de heparina, que no inhibe el factor Xa⁶. En este método de dos fases, se añade el factor Xa a una dilución de plasma que contenga AT-III en presencia de calico y heparina en exceso. Tras un período inicial de incubación (fase 1), se determina el factor Xa residual con un sustrato cromógeno específico para factor Xa (fase 2). La actividad residual del factor Xa es inversamente proporcional a la concentración de AT-III. El Kit Coagnos® Antithrombin Xa de Analyticon Biotechnologies AG está diseñado para la determinación cuantitativa de actividad de antitrombina III (AT-III) en plasma humano citratado mediante una valoración cromógeno.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES:

Los reactivos que contiene este kit son sólo para uso de diagnóstico in vitro: NO INGERIR. Lleve el equipo de protección personal adecuado cuando utilice todos los componentes del kit. La hoja de datos de seguridad del material se puede descargar desde nuestra página web <http://www.analyticon-diagnostics.com>. Desechar los componentes de conformidad con las normativas locales. En caso de que se haya producido un incidente grave en relación con el dispositivo, informe al fabricante y, si corresponde, a la autoridad competente del país donde los usuarios o los pacientes tienen su domicilio.

COMPOSICIÓN:

Componente	Contiene	Descripción	Preparación
Factor Xa	5 x 2 mL	Cada vial contiene factor Xa bovino liofilizado.	Reconstituir cada vial con 2 mL de agua destilada / desionizada. Dejar reposar durante 10 minutos y mezclar bien antes de usar.
Factor Xa Substrate	5 x 2 mL	Cada vial contiene CH3OCO-D-CHAGly-Arg-pNA•AcOH liofilizado.	Reconstituir cada vial con 2 mL de agua destilada / desionizada. Dejar reposar durante 10 minutos y mezclar bien antes de usar.
Sample Diluent	5 x 3 mL	Cada vial contiene de concentrado tampón 5x con azida sódica a 0,1% como conservante. Una vez diluido completamente, el tampón contiene 0,05 M Tris-HCl, 0,175 M NaCl, 7,5 mM Na ₂ EDTA y heparina sódica de pH 8,4.	Diluir 1 + 4 con agua destilada / desionizada y mezclar bien.

ARTÍCULOS NECESARIOS NO SUMINISTRADOS:

Espectrofotómetro que funcione a 405 nm.
Dependiendo del método de valoración utilizado:

- REF CG0370 Calibration Plasma
- Ácido acético glacial
- Baño seco o baño maría a +37 °C
- Cronómetro de laboratorio

ALMACENAMIENTO, CADUCIDAD Y ESTABILIDAD:

Las ampollas que no se hayan abierto serán estables hasta la fecha de caducidad establecida siempre que se almacenen en las condiciones indicadas en la etiqueta de la ampolla o del kit.

Factor Xa	Una vez reconstituido el reactivo permanece estable durante: 2 meses a +2 →+8 °C, 1 mes a 17 °C y 2 días a +37 °C.
Factor Xa Substrate	Una vez reconstituido el reactivo permanece estable durante: 2 meses a +2 →+8 °C, 1 mes a 17 °C y 7 días a +37 °C.
Sample Diluent	Guardar el tampón diluido en un frasco herméticamente cerrado a +2 →+8 °C y utilizar en el plazo de un mes.

RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS:

Debe usarse siempre plástico o vidrio silicónizado. Debe recogerse sangre (9 partes) en el anticoagulante citrato sódico al 3,2% o al 3,8% (1 parte). Separar el plasma después de la centrifugación a 1500 x g durante 15 minutos. El plasma debe conservarse a +2 →+8 °C o +18 →+24 °C. Las pruebas deberían terminarse en 4 horas desde la recogida de las muestras o el plasma puede conservarse congelado a -20°C durante 2 semanas o -70°C durante 6 mes. Descongelar rápidamente a +37 °C antes de realizar la prueba. No conservar a +37 °C durante más de 5 minutos⁷.

PROCEDIMIENTO:

Preparación de diluciones estándar (REF CG0370), control y paciente:		
%AT-III	Plasma	Tampón de dilución
100%	10 µL estándar	990 µL
50%	500 µL de 100% Est.	500 µL
25%	500 µL de 50% Est.	500 µL
12,5%	500 µL de 25% Est.	500 µL
Paciente o control	10 µL Plasma	990 µL

A. Método de punto final semi-micro

- Añadir 200 µL de dilución de plasma estándar/control o paciente a un tubo de prueba.
- Incubar a +37°C durante 2-4 minutos.
- Añadir 200 µL de reactivo de Factor Xa y mezclar.
- Incubar a +37°C durante EXACTAMENTE 1 minuto.
- Añadir 200 µL de reactivo de Factor Xa y mezclar.
- Incubar a +37°C durante EXACTAMENTE 3 minutos.
- Añadir 200 µL de ácido acético (50%) y mezclar.
- * Añadir 200 µL de agua (opcional).

REF: CG0381

El color amarillo del producto de reacción final permanece estable durante al menos 4 horas. Leer la absorbencia a 405 nm en una cubeta semi-micro de 1cm sobre un blanco preparado del siguiente modo:

1. 200 µL de ácido acético.
2. 200 µL de solución estándar.
3. 200 µL de reactivo de Factor Xa.
4. 200 µL de sustrato de Factor Xa.
5. * 200 µL de agua (opcional).

* Algunos espectrofotómetros requieren un mínimo de volumen de 1 mL en la cubeta. Si el plasma del paciente es muy icterico, debe prepararse un segundo blanco con dilución de plasma paciente en vez de una dilución estándar y debe restarse la absorbencia de la absorbencia obtenida por la determinación de AT-III del paciente. Se pueden realizar hasta diez determinaciones simultáneamente con el mismo cronómetro, escalonando los pasos de pipeteado en intervalos de cinco segundos.

B. Método cinético

Debe utilizarse un analizador cinético para medir la tasa inicial de hidrólisis del sustrato cromógeno. El procedimiento que debe utilizarse es el siguiente:

En una cubeta de reacción:

1. Añadir 200 µL de plasma paciente o estándar diluido.
2. Incubar a +37°C durante 1 minuto.
3. Añadir 200 µL de reactivo de Factor Xa y mezclar.
4. Incubar a +37°C durante 1 minuto.
5. Añadir 200 µL de sustrato de Factor Xa.
6. Medir la tasa de cambio de absorbencia a 405 nm durante 1 minuto.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS:

a) Calibración del estudio

Debe utilizarse como referencia un estándar de plasma preparado de forma comercial en el que se haya determinado AT-III (p.ej. Analyticon Biotechnologies AG Coagnos[®] Calibration Plasma, REF CG0370).

b) Curva de calibración

Representa la absorbencia obtenida con cada estándar de calibración de AT-III en el eje y frente al porcentaje (%) de AT-III en el eje x en un papel de gráfico lineal. La línea de mejor ajuste debe determinarse mediante un análisis lineal de regresión. Puede determinarse la AT-III en muestras de plasma interpolando desde la curva de calibración. Debe ajustarse la concentración de AT-III en la muestra del paciente para la concentración de AT-III en el estándar:
% AT-III (ajustado) = % AT-III (paciente) x % AT-III (estándar) / 100

LIMITACIONES:

Evitar muestras ictericas, lipémicas y hemolizadas. Para garantizar resultados reproducibles, utilizar dispositivos de pipeteado precisos y seguir los procedimientos recomendados con especial atención a los tiempos de incubación y temperatura.

CONTROL DE CALIDAD:

Cada laboratorio debe establecer un programa de control de calidad. Los plasmas de control normales y anormales deben estudiarse antes de cada lote de muestras del paciente, para asegurar un funcionamiento adecuado del instrumento y el operador. Si los controles no se realizan como se esperaba, los resultados del paciente deben considerarse inválidos. Analyticon Biotechnologies AG suministra los siguientes controles disponibles para usar con este producto:

REF CG0351	Coagnos [®] Routine Control N
REF CG0352	Coagnos [®] Routine Control P
REF CG0361	Coagnos [®] Special Control N
REF CG0362	Coagnos [®] Special Control P

VALORES DE REFERENCIA:

Los valores de referencia pueden variar entre los laboratorios dependiendo de las técnicas y sistemas usados. Por esta razón, cada laboratorio debe establecer su propio intervalo normal. El intervalo normal de AT-III es 75-125% en plasma. Los niveles de actividad de plasma del 30-60% pueden observarse en pacientes con deficiencia hereditaria de AT-III^{1,2}. Entre los estados clínicos asociados con la deficiencia adquirida de AT-III se incluyen: hepatopatía, CID, síndrome nefrótico, embolia pulmonar, ictus y tromboflebitis. Además, el uso de contraceptivos orales puede conllevar una reducción de los niveles de AT-III².

CARACTERÍSTICAS FUNCIONALES:

Las siguientes características de rendimiento han sido determinadas por Analyticon Biotechnologies AG o sus representantes usando un instrumento de coagulación Coagulyzer[®] Auto Pro. Cada laboratorio debe establecer sus propios datos de rendimiento.

Precisión

La precisión se evaluó utilizando los analizadores de coagulación conforme a la publicación: CLSI guideline EP05-A3: Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline – Third Edition, 2008.

Muestra	Valor medio	Repetibilidad		En el dispositivo	
		SD	CV [%]	SD	CV [%]
concentración de AT-III [%]	98.6	6.19	6.28	7.06	7.16
	41.5	4.22	10.18	6.97	16.81
	34.4	4.03	11.73	6.26	18.21

Linealidad

El método está diseñado para proporcionar una curva estándar lineal de 2.9 – 134.8 % de AT-III.

Interferencias

Coagnos[®] Antithrombin Xa no detecta niveles de heparina inferiores a 3 U/mL. Con un umbral de interferencia del 5%, no hay interferencias significativas de hemoglobina en concentraciones de hasta 1000 mg/dL. Con un umbral de interferencia del 5%, no hay interferencias significativas de bilirrubina en concentraciones de hasta 29 mg/dL para Coagnos[®] Antithrombin Xa. La interferencia de lípidos demuestra que los niveles de lípidos no afectan directamente al tiempo de coagulación del reactivo hasta 672 mg/dL.

Comparación del método

La comparación del concentración de AT-III [%] se determinó con Coagnos[®] Antithrombin Xa (Coagulyzer[®] Auto Pro) y Siemens[®] Antithrombin (INNOVANCE[®] Antithrombin / Sysmex[®] CS-5100) en 104 muestras. Se obtuvieron las siguientes correlaciones:

$$\text{Coagnos}^{\text{®}} \text{ Antithrombin Xa [\%]} = 0.885x - 5.241 \quad r^2 = 0.98 \quad n = 104$$

SÍMBOLOS



Producto de diagnóstico in vitro



El producto cumple con la legislación europea



Tener en cuenta las instrucciones de uso!



Fecha de caducidad



Consérvese a



Lea las advertencias y precauciones en las instrucciones de uso!



Número de identificación del lote



Número de artículo



Fabricante

Coagnos[®] Antithrombin Xa

FR

UTILISATION:

Le kit Coagnos[®] Antithrombin Xa est destiné à la réalisation des analyses chromogènes de l'hémostase dans le plasma humain. Le kit Coagnos[®] Antithrombin Xa est exclusivement destiné à un usage professionnel.

L'AT-III est l'un des principaux inhibiteurs de la coagulation sanguine car il inhibe des sérine-protéases du plasma dont les facteurs IXa, Xa, XIa et la thrombine. Le taux d'inhibition augmente de façon significative en présence d'héparine. Le déficit en AT-III, qui peut être congénital ou acquis, implique une augmentation du risque de thrombose^{1,3}. Un déficit peut être détecté en cas de maladie hépatique, de coagulation intravasculaire disséminée (CIVD), de septicémie, d'embolie pulmonaire, de syndrome néphrotique, d'ictus et de thrombophlébite^{2,3}. La plupart des dosages fonctionnels de l'AT-III, comme celui décrit par Odegard et al⁴, se basent sur la capacité du plasma à inactiver la thrombine en présence d'héparine. Plus récemment, il a été prouvé qu'une méthode se basant sur la capacité du plasma à inhiber le facteur Xa en présence d'héparine est plus précise car l'interférence due au cofacteur II de l'héparine⁵, qui n'inhibe pas le facteur Xa⁶, est supprimée. Dans la présente méthode en deux étapes, le facteur Xa est ajouté à une dilution de plasma contenant l'AT-III en présence d'ions calcium et d'héparine en excès. Après une période d'incubation initiale (étape 1), le facteur Xa résiduel est déterminé avec un substrat chromogénique spécifique du facteur Xa (étape 2). L'activité résiduelle du facteur Xa est inversement proportionnelle à la concentration en AT-III. Le kit Coagnos[®] Antithrombin Xa Analyticon Biotechnologies AG est utilisé pour la détermination quantitative de l'activité de l'antithrombine III (AT-III) dans le plasma humain citraté par dosage chromogénique.

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS:

Les réactifs du kit sont à usage diagnostique in vitro uniquement – NE PAS INGÉRER. Porter un équipement de protection individuelle approprié lors de la manipulation de tous les composants du kit. La fiche de données de sécurité peut être téléchargée à partir de notre page d'accueil <http://www.analyticon-diagnostics.com>. Éliminer les composants conformément aux réglementations locales. En cas d'incident grave lié à l'appareil, veuillez le signaler au fabricant et, le cas échéant, à l'autorité compétente du pays dans lequel les utilisateurs et/ou les patients sont établis.

COMPOSITION:

Composant	Contient	Description	Préparation
Factor Xa	5 x 2 mL	Chaque flacon contient du facteur Xa lyophilisé d'origine bovine.	Reconstituer chaque flacon en ajoutant 2 mL d'eau distillée ou désionisée. Laisser reposer 10 minutes et bien mélanger avant utilisation.
Factor Xa Substrate	5 x 2 mL	Chaque flacon contient du CH3OCOD-CHA-Gly-Arg-pNA•AcOH lyophilisé.	Reconstituer chaque flacon en ajoutant 2 mL d'eau distillée ou désionisée. Laisser reposer 10 minutes et bien mélanger avant utilisation.
Sample Diluent	5 x 3 mL	Chaque flacon contient de tampon concentré 5x additionné d'acide de sodium à 0,1% comme conservateur. Lorsqu'il est complètement dilué, le tampon contient Tris-HCl 0,05 M, NaCl 0,175 M, Na ₂ EDTA 7,5 mM et de l'héparine sodique à un pH de 8,4.	Réaliser une dilution 1 + 4 avec de l'eau distillée / désionisée et bien mélanger.

MATÉRIEL NÉCESSAIRE NON FOURNI:

Spectrophotomètre fonctionnant à 405 nm.

Suivant la méthode de dosage utilisée:

- REF CG0370 Coagnos® Calibration Plasma
- Acide acétique glacial
- Bain sec ou bain-marie à +37 °C
- Chronomètre de laboratoire

CONSERVATION, DURÉE DE VIE UTILE ET STABILITÉ:

Les flacons non ouverts sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée s'ils sont conservés dans les conditions indiquées sur l'étiquette du kit ou du flacon.

Factor Xa	Une fois reconstitué, le réactif est stable 2 mois entre +2 – +8 °C, 1 mois à +17 °C ou 2 jours à +37 °C.
Factor Xa Substrate	Une fois reconstitué, le réactif est stable 2 mois entre +2 – +8 °C, 1 mois à +17 °C ou 7 jours à +37 °C.
Sample Diluent	Conserver le tampon dilué dans une bouteille hermétiquement fermée entre +2 – +8 °C et utiliser dans le mois suivant.

PRÉLÈVEMENT ET PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS:

Utiliser tout au long du prélèvement du plastique ou du verre silicé. Mélanger 9 volumes de sang et 1 volume de citrate de sodium à 3,2% ou 3,8%. Séparer le plasma après centrifugation à 1500 x g pendant 15 minutes. Conserver le plasma entre +2 – +8 °C ou +18 – +24 °C. L'analyse doit être terminée dans les 4 heures suivant le prélèvement de l'échantillon ; sinon, il est possible de congeler le plasma 2 semaines à -20°C ou 6 mois à -70 °C. Décongeler rapidement à +37 °C avant de réaliser l'analyse. Ne pas laisser à +37°C plus de 5 minutes⁷.

PROCEDURE:

Préparation des dilutions étalon (REF CG0370), contrôle et patient:

%AT-III	Plasma	Tampon de dilution
100%	10 µL étalon	990 µL
50%	500 µL de 100% étalon	500 µL
25%	500 µL de 50% étalon	500 µL
12,5%	500 µL de 25% étalon	500 µL
Patient ou contrôle	10 µL plasma	990 µL

A. Méthode à point de virage semi-micro

- Pipeter 200 µL de dilution de plasma patient ou étalon/contrôle dans un tube à essai.
- Incuber 2-4 minutes à +37 °C.
- Ajouter 200 µL de réactif Facteur Xa et mélanger.
- Incuber à +37 °C pendant exactement 1 minute.
- Ajouter 200 µL de substrat Facteur Xa et mélanger.
- Incuber à +37 °C pendant exactement 3 minutes.
- Ajouter 200 µL d'acide acétique (50%) et mélanger.
- * Ajouter 200 µL d'eau (en option).

La couleur jaune du produit de réaction final est stable pendant au moins 4 heures. Lire l'absorbance à 405 nm dans cuvette semi-micro de 1cm par rapport à un blanc préparé de la manière suivante:

- 200 µL d'acide acétique.
- 200 µL de dilution étalon.
- 200 µL de réactif Facteur Xa.
- 200 µL de substrat Facteur Xa.
- * 200 µL d'eau (en option).

* Certains spectrophotomètres exigent un volume minimum de 1 mL dans la cuvette. Si le plasma du patient est très icterique, il est nécessaire de préparer un second blanc contenant une dilution de plasma patient au lieu de la dilution étalon puis de soustraire l'absorbance obtenue pour la détermination de l'AT-III du patient. Il est possible de réaliser jusqu'à dix déterminations simultanément avec le même chronomètre en échelonnant les étapes de pipetage à des intervalles de cinq secondes.

B. Méthode cinétique

Un analyseur cinétique peut être utilisé pour mesurer le taux initial d'hydrolyse du substrat chromogénique. Voici la procédure à utiliser: Dans une cuvette d'analyse:

- Ajouter 200 µL de plasma patient ou d'étalon dilué.
- Incuber 1 minute à +37 °C.
- Ajouter 200 µL de réactif Facteur Xa et mélanger.
- Incuber 1 minute à +37 °C.
- Ajouter 200 µL de substrat Facteur Xa.
- Mesurer le taux de variation de l'absorbance à 405 nm pendant 1 minute.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS:

a) Étalonnage du dosage

Il est nécessaire d'utiliser comme plasma de référence un plasma étalon préparé disponible sur le marché dont l'AT-III a été déterminée (par exemple, le Coagnos® Calibration Plasma Analyticon Biotechnologies AG, REF CG0370).

b) Courbe d'étalonnage

Tracer, point par point, une courbe en représentant l'absorbance obtenue avec chacun des étalons servant à l'étalonnage de l'AT-III (axe des ordonnées) en fonction du % AT-III (en abscisse) sur du papier millimétré. La courbe correspondante doit être déterminée par analyse de régression linéaire. L'AT-III des échantillons de plasma est déterminée par interpolation à partir de la courbe d'étalonnage. La concentration en AT-III de l'échantillon patient doit être rectifiée suivant la concentration en AT-III dans l'étalon:

$$\% \text{ AT-III (rectifiée)} = \% \text{ AT-III (patient)} \times \% \text{ AT-III (étalon)} / 100$$

LIMITES:

Éviter d'utiliser des échantillons icteriques, lipémiques ou hémolysés. Afin de garantir la reproductibilité des résultats, utiliser des dispositifs de pipetage précis et observer les procédures recommandées en respectant tout particulièrement la température et la durée d'incubation.

CONTRÔLE QUALITÉ:

Chaque laboratoire doit établir un programme de contrôle qualité. Les plasmas de contrôle, normaux et anormaux, doivent être testés avant chaque lot d'échantillons patients afin de s'assurer que l'instrument et l'opérateur offrent des performances satisfaisantes. Si les contrôles ne donnent pas les résultats prévus, les résultats du patient doivent être considérés comme non valables. Analyticon Biotechnologies AG distribue les contrôles suivants à utiliser avec ce produit:

REF CG0351	Coagnos® Routine Control N
REF CG0352	Coagnos® Routine Control P
REF CG0361	Coagnos® Special Control N
REF CG0362	Coagnos® Special Control P

VALEURS DE RÉFÉRENCE:

Les valeurs de référence peuvent varier d'un laboratoire à l'autre suivant les techniques et les systèmes utilisés. C'est pour cette raison qu'il appartient à chaque laboratoire de déterminer sa propre plage normale. La plage normale de l'AT-III dans le plasma est de 75-125%. Il est possible de mesurer un taux d'activité plasmatique de 30-60% chez les patients ayant un déficit héréditaire en AT-III^{1,2}. Plusieurs troubles cliniques ont été mis en rapport avec un déficit acquis en AT-III: maladie hépatique, CIVD, syndrome néphrotique, embolie pulmonaire, ictus et thrombophlébite. En outre, l'utilisation de contraceptifs oraux peut entraîner une diminution du taux d'AT-III².

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCES:

Analyticon Biotechnologies AG ou ses mandataires ont déterminé les caractéristiques de performance suivantes en utilisant un instrument de coagulation Coagulyzer® Auto Pro. Chaque laboratoire doit établir ses propres données de performance.

Précision

Le test de précision a été exécuté selon le guide de Bonne Exécution des analyses de biologie médicale : CLSI guideline EP05-A3: Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline – Third Edition, 2008.

Échantillon	Moyenne	Répétabilité		Intra-dispositif	
		SD	CV [%]	SD	CV [%]
Concentration en AT-III [%]	98.6	6.19	6.28	7.06	7.16
	41.5	4.22	10.18	6.97	16.81
	34.4	4.03	11.73	6.26	18.21

Linéarité

La méthode doit donner une courbe d'étalonnage linéaire sur la page 2.9 – 134.8 % de AT-III.

Interférences

Coagnos® Antithrombin Xa ne présente pas d'interférences avec un taux d'héparine jusqu'à 3 U/mL. En utilisant un seuil d'interférence de 5 %, il n'y a pas d'interférences significatives de l'hémoglobine à une concentration jusqu'à 1000 mg/dL. En utilisant un seuil d'interférence de 5 %, il n'y a pas d'interférences significatives de la bilirubine à une concentration jusqu'à 29 mg/dL pour la Coagnos® Antithrombin Xa. Une évaluation de l'interférence des lipides montre que les taux de lipides n'affectent pas le temps de coagulation du réactif jusqu'à 672 mg/dL.









REF: CG0381

Comparaison de la méthode

Des comparaisons du concentration en AT-III [%] ont été déterminées en utilisant les produits Coagnos[®] Antithrombin Xa (Coagulyzer[®] Auto Pro) et Siemens[®] (INNOVANCE[®] Antithrombin / Sysmex[®] CS-5100) avec 104 échantillons. Les corrélations suivantes ont été obtenues:

$$\text{Coagnos}^{\circledR} \text{ Antithrombin Xa [\%]} = 0.885x - 5.241 \quad r^2 = 0.98 \quad n = 104$$

SYMBOLES

	Produit de diagnostic in vitro
	Le produit est conforme à la législation européenne
	Respecter le mode d'emploi !
	Date limite d'utilisation
	Plage de température de stockage autorisée
	Lisez les avertissements et les précautions dans le mode d'emploi !
	Numéro d'identification du lot
REF	Numéro d'article
	Fabricant

Coagnos[®] Antithrombin Xa DE

VERWENDUNGSZWECK:

Das Coagnos[®] Antithrombin Xa -Kit ist für chromogene Gerinnungstests in humanem Plasma vorgesehen. Das Coagnos[®] Antithrombin Xa Kit ist nur für den professionellen Einsatz.

AT-III gehört zu den Haupt-Hemmfaktoren der Blutgerinnung, indem es Plasminogen- und Plasmin-Aktivität hemmt. Der Grad der Hemmung ist bei Anwesenheit von Heparin signifikant erhöht. Mangel an AT-III kann angeboren oder erworben sein und geht mit einem erhöhten Thrombose-Risiko einher¹⁻³. Mängel können bei Lebererkrankungen, Verbrauchskoagulopathie (DIC), septischem Fieber, Lungenembolie, nephrotischem Syndrom, Schlaganfall und Thrombophlebitis auftreten^{2,3}. Die meisten Funktionstests auf AT-III beruhen, wie bei dem durch Odegard u. a. beschriebene Test, auf der Fähigkeit des Plasmas, Thrombin in Anwesenheit von Heparin zu inaktivieren⁴. Erst kürzlich hat man gezeigt, dass eine Methode, basierend auf der Fähigkeit des Plasmas Faktor Xa in Anwesenheit von Heparin zu hemmen, genauer sein kann, da sie Interferenzen aufgrund des Heparin Ko-Faktors II ausschließt⁵, das Faktor Xa nicht hemmt⁶. Bei der vorliegenden Zwei-Phase-Methode wird Faktor Xa in Anwesenheit von Heparin und Calcium im Überschuss zu einer AT-III enthaltenen Plasmaverdünnung hinzugegeben. Nach einer ersten Inkubationszeit (Phase 1) wird Restfaktor Xa mit einem Faktor Xa spezifischen, chromogenen Substrat (Phase 2) bestimmt. Die Restfaktor Xa Aktivität ist umgekehrt proportional zur AT-III Konzentration. Das Analyticon Biotechnologies AG Coagnos[®] Antithrombin Xa Kit ist zur quantitativen Bestimmung der Antithrombin-III (AT-III)-Aktivität in humanem Citratplasma durch Chromogen-Test bestimmt.

WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN:

Die in diesem Kit enthaltenen Reagenzien sind ausschließlich für die Verwendung von in-vitro-Diagnosen vorgesehen. NICHT VERSCHLÜCKEN. Tragen Sie beim Umgang mit sämtlichen Komponenten des Kits geeignete Schutzausrüstung. Das Sicherheitsdatenblatt steht zum Download auf unserer Homepage <http://www.analyticon-diagnostics.com> zur Verfügung. Entsorgen Sie die Komponenten gemäß den örtlichen Vorschriften. Falls im Zusammenhang mit dem Produkt ein schwerwiegendes Vorkommnis aufgetreten ist, informieren Sie bitte den Hersteller und gegebenenfalls die zuständige Behörde des Landes, in dem sich die Anwender und / oder Patienten niedergelassen haben.

ZUSAMMENSETZUNG:

Komponente	Inhalt	Beschreibung	Vorbereitung
Factor Xa	5 x 2 mL	Jedes Fläschchen enthält gefriergetrockneten Faktor Xa vom Rind.	Jedes Fläschchen mit 2 mL destilliertem / entionisiertem Wasser rekonstituieren. 10 Minuten stehen lassen und vor Gebrauch gut mischen.
Factor Xa Substrate	5 x 2 mL	Jedes Fläschchen enthält gefriergetrocknetes CH3OCO-D-CHAGly-Arg-pNA•AcOH.	Jedes Fläschchen mit 2 mL destilliertem / entionisiertem Wasser rekonstituieren. 10 Minuten stehen lassen und vor Gebrauch gut mischen.

Sample Diluent	5 x 3 mL	Jedes Fläschchen enthält 5x Pufferkonzentrat mit 0,1% Natriumazid als Konservierungsmittel. Vorständig aufgelöst enthält der Puffer 0,05 M Tris-HCl, 0,175 M NaCl, 7,5 mM Na ₂ EDTA und Natriumheparin bei pH 8,4.	1 + 4 mit destilliertem / entionisiertem Wasser verdünnen und gut mischen.
----------------	----------	---	--

ERFORDERLICHE, ABER NICHT MITGELIEFERTER ARTIKEL

Spektralphotometer mit Wellenlänge 405 nm.

Je nach angewendeter Testmethode:

- REF CG0370 Coagnos[®] Calibration Plasma
- Eisessig
- +37 °C Wasserbad oder Wärmeblock
- Laborstoppuhr

LAGERUNG, HALTBARKEIT UND STABILITÄT:

Ungeöffnete Fläschchen sind unter den auf Verpackung oder Fläschchen angegebenen Lagerbedingungen bis zum aufgedruckten Verfallsdatum stabil.

Factor Xa Nach Rekonstitution ist das Reagenz für 2 Monate bei +2 → +8 °C, 1 Monat bei +17 °C und 2 Tage bei +37 °C stabil.

Factor Xa Substrate Nach Rekonstitution ist das Reagenz für 2 Monate bei +2 → +8 °C, 1 Monat bei +17 °C und 7 Tage bei +37 °C stabil.

Sample Diluent Verdünnten Puffer in einer fest verschlossenen Flasche bei +2 → +8 °C aufbewahren und innerhalb eines Monats

PROBENENTNAHME UND VORBEREITUNG:

Nur Plastik oder Silikonglas verwenden. Blut (9 Teile) sollte in 3,2% oder 3,8% Natriumcitrat als Antikoagulant (1 Teil) entnommen werden. 15 Minuten bei 1500 g zentrifugieren und Plasma abpipettieren. Plasma bei +2 → +8 °C oder +18 → +24 °C lagern. Plasma sollte innerhalb von 4 Stunden verarbeitet oder tief gefroren bei -20 °C für 2 Wochen oder -70 °C für 6 Monate gelagert werden. Vor dem Testen schnell bei +37 °C auftauen. Nicht länger als 5 Minuten bei +37 °C belassen⁷.

VORGEHENSWEISE:

Vorbereitung der Standard- (REF CG0370), Kontroll- und Patientenverdünnungen:

%AT-III	Plasma	Verdünnungs-Puffer
100%	10 µL Standard	990 µL
50%	500 µL von 100% Std.	500 µL
25%	500 µL von 50% Std.	500 µL
12,5%	500 µL von 25% Std.	500 µL
Patient oder Kontrolle	10 µL Plasma	990 µL

A. Halb-Mikro Endpunkt-Methode

1. 200 µL Standard/Kontrolle- oder Patientenplasma-Verdünnung in ein Röhrchen geben.

2. Bei +37 °C 2-4 Minuten inkubieren.

3. 200 µL Faktor Xa-Reagenz zufügen und mischen.

4. GENAU 1 Minute bei +37 °C inkubieren.

5. 200 µL Faktor Xa-Substrat zufügen und mischen.

6. GENAU 3 Minuten bei +37 °C inkubieren.

7. 200 µL Eisessig (50%) hinzugeben und mischen.

8. *200 µL Wasser zufügen (optional).

Die gelbe Farbe des Reaktions-Endprodukts ist mindestens 4 Stunden stabil. Die Extinktion bei 405 nm in einer 1cm Halb-Mikroküvette gegen einen wie folgt hergestellten Leerwert messen:

- 200 µL Eisessig.
- 200 µL Standardverdünnung.
- 200 µL Faktor Xa-Reagenz.
- 200 µL Faktor Xa-Substrat.
- * 200 µL Wasser (optional).

* Einige Spektralphotometer benötigen ein Minimum von 1 mL Volumen in der Küvette. Bei sehr ikterischem Patientenplasma sollte ein zweiter Leerwert mit Patientenplasma-Verdünnung anstatt Standard- Verdünnung hergestellt und diese Extinktion von der Extinktion der AT-III Bestimmung des Patienten abgezogen werden. Es kann mit derselben Stoppuhr bis zu 10 Bestimmungen gleichzeitig gestartet werden, indem die Pipettierschritte im Abstand von fünf Sekunden ausgeführt werden.

REF: CG0381

B. Kinetische Methode

Den Ausgangswert der Hydrolyse des chromogenen Substrats kann man mit einem kinetischen Analyseautomaten messen. Die Vorgehensweise ist wie folgt: In eine Reaktionsküvette:

1. 200 µL verdünnten Standard oder Patientenplasma geben.
2. Bei +37 °C 1 Minuten inkubieren.
3. 200 µL Faktor Xa-Reagenz zufügen und mischen.
4. 1 Minute bei +37 °C inkubieren.
5. 200 µL Faktor Xa-Substrat zufügen.
6. Extinktionsänderung über 1 Minute bei 405 nm messen.

INTERPRETATION DER ERGEBNISSE:

a) Testkalibration

Als Referenz sollte ein kommerziell hergestellter Plasma-Standard mit bekanntem AT-III (z. B. Analyticon Biotechnologies AG Coagnos[®] Calibration Plasma, REF CG0370) verwendet werden.

b) Kalibrationskurve

Auf einem linearen Millimeterpapier die jeweiligen Extinktionen der einzelnen AT-III Kalibrationsstandards auf der y-Achse gegen % AT-III auf der x-Achse auftragen. Die Ausgleichsgerade sollte durch lineare Regressionsanalyse bestimmt werden. Das AT-III der Plasmaproben kann dann mit Hilfe der Interpolation aus der Kalibrationskurve abgelesen werden. Die AT-III-Konzentration der Patientenprobe sollte der AT-III-Konzentration im Standard angeglichen werden: % AT-III (angeglichen) = % AT-III (Patient) x % AT-III (Standard) / 100

EINSCHRÄNKUNGEN:

Ikterische, lipämische und hämolytische Proben vermeiden. Zum Erhalt reproduzierbarer Ergebnisse Präzisionspipetten verwenden und die empfohlenen Vorgehensweisen einhalten mit besonderem Augenmerk auf Inkubationszeiten und Temperatur.

QUALITÄTSKONTROLLE:

Jedes Labor muss für eine eigene Qualitätskontrolle sorgen. Vor jeder Testreihe mit Patientenproben müssen normale und pathologische Kontrollplasmen getestet werden, um eine zufrieden stellende Geräteleistung und Bedienung zu gewährleisten. Liegen die Kontrollen außerhalb des Normbereichs, sind die Patientenergebnisse nicht zu verwenden. In Verbindung mit diesem Produkt bietet Analyticon Biotechnologies AG die folgenden Kontrollen an:

REF CG0351	Coagnos [®] Routine Control N
REF CG0352	Coagnos [®] Routine Control P
REF CG0361	Coagnos [®] Special Control N
REF CG0362	Coagnos [®] Special Control P

REFERENZWERTE:

Referenzwerte können je nach Technik und verwendetem System von Labor unterschiedlich sein. Aus diesem Grund sollte jedes Labor seinen eigenen Normalwertbereich erstellen. Der AT-III Normalbereich beträgt 75-125% im Plasma. Plasma-Aktivitäten von 30-60% können bei Patienten mit angeborenem AT-III-Mangel beobachtet werden^{1,2}. Verschiedenen klinische, mit einem erworbenen AT-III-Mangel einhergehende Zustände sind u. a.: Lebererkrankung, DIC, nephrotisches Syndrom, Lungenembolie, Schlaganfall und Thrombophlebitis. Zusätzlich können orale Verhütungsmittel zu verminderten AT-III-Werten führen².

LEISTUNGSMERKMALE:

Die folgenden Leistungseigenschaften wurden von Analyticon Biotechnologies AG oder in ihrem Auftrag mit einem Coagulyzer[®] Auto Pro gerinnungsgerät ermittelt. Jedes Labor muss seine eigenen Werte ermitteln.

Präzision

Der Präzisionstest erfolgte in Übereinstimmung mit der Richtlinie: CLSI guideline EP05-A3: Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline – Third Edition, 2008.

Probe	Mittelwert	Wiederholbarkeit		Selbes Gerät	
		SD	CV [%]	SD	CV [%]
Antithrombin Xa-Konzentration [%]	98.6	6.19	6.28	7.06	7.16
	41.5	4.22	10.18	6.97	16.81
	34.4	4.03	11.73	6.26	18.21

Linearität

Die Methode ist zur Angabe einer linearen Standardkurve von 2.9 – 134.8 % Antithrombin Xa entwickelt worden.

Interferenzen

Coagnos[®] Antithrombin Xa ist unempfindlich gegenüber Heparinwerten bis zu 3 Einheiten/mL. Mit einer Störschwelle von 5 % gibt es keine besondere Interferenz durch Hämoglobin bei Konzentrationen von bis zu 1000 mg/dL. Mit einer Störschwelle von 5 % gibt es keine besondere Interferenz durch Bilirubin bei Konzentrationen von bis zu 29 mg/dL bei Coagnos[®] Antithrombin Xa. Lipidinterferenzttests zeigen, dass die Lipidmenge die Gerinnungszeit des Reagenz bis 672 mg/dL nicht direkt beeinflusst.

Methodenvergleich

Coagnos[®] Antithrombin (Coagulyzer[®] Auto Pro) und Siemens[®] (INNOVANCE[®] Antithrombin / Sysmex[®] CS-5100) wurden an 104 Proben angewandt. Dabei

wurden die Antithrombin Xa-Konzentrationen [%] verglichen. Es ergaben sich folgende Korrelationen:

$$\text{Coagnos}^{\text{®}} \text{ Antithrombin Xa [\%]} = 0.885x - 5.241 \quad r^2 = 0.98 \quad n = 104$$

SYMBOLE



In vitro diagnostisches Produkt



Das Produkt entspricht der europäischen Richtlinie.



Gebrauchsanweisung beachten!



Verwendbar bis



Erlaubte Lagerungstemperatur



Lesen Sie die Warnhinweise und Vorsichtsmassnahmen in der Gebrauchsanweisung!



Chargenbezeichnung



Artikelnummer



Hersteller

BIBLIOGRAPHY/BIBLIOGRAFÍA/BIBLIOGRAPHIE/ LITERATURVERZEICHNIS:

1. Hirsh J et al (1989) Congenital antithrombin III deficiency. Incidence and clinical features, Am J. Med, 87(suppl. 3B): 34S-38S
2. Panicucci F et al (1981) Antithrombin III, heparin cofactor and antifactor Xa in relation to age, sex and pathological condition, Haemostasis, 9: 297-302
3. Conlan MG et al (1994) Antithrombin: Antithrombin III: Associations with age, race, sex and cardiovascular disease risk factors, Thromb. Haemost, 72(4): 551-556
4. Odegard OR et al (1975) Heparin cofactor activity measured with an amidolytic method, Thromb. Res, 6: 287-294
5. Demers C et al (1993) An antithrombin III assay based on factor Xa inhibition provides a more reliable test to identify congenital antithrombin III deficiency than an assay based on thrombin inhibition, Thromb. Haemost, 69: 231-235
6. Tolefsen DM, Blank MK (1981) Detection of a new heparin-dependent inhibitor of thrombin in human plasma, J. Clin. Invest, 68: 589-596
7. Clinical and Laboratory Standards Institute (2008) Collection, Transport and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Haemostasis Assays: Approved Guideline, 5th edn. CLSI: H21-A5