

**Liquid Antithrombin - 0020300400**

**Intended use**

Automated chromogenic assay for the quantitative determination of Antithrombin in human citrated plasma on the IL Coagulation Systems.

**Summary and principle**

Antithrombin (AT) or Heparin Cofactor II is the major inhibitor of blood coagulation and is essential for effective heparin therapy. By inhibiting the coagulation proteases, especially thrombin, FXa and FIXa, AT prevents uncontrolled coagulation and thrombosis. Antithrombin deficiency is associated with a high risk of thromboembolic disorders.<sup>1,2,3</sup>

Liquid Antithrombin can be used to exclude or diagnose hereditary deficiency<sup>4,5</sup> in patients with a tendency toward thromboembolism, in pre-operative stages, before prescription of oral contraceptives, DIC,<sup>6</sup> nephrotic syndromes, liver diseases<sup>7</sup> and in therapy with heparin or antithrombin concentrates.<sup>8,9</sup>

The Liquid Antithrombin kit is an assay based on a synthetic chromogenic substrate and on FXa inactivation.<sup>10,11</sup> As a consequence, the method is specific and not influenced by Heparin Cofactor II. Antithrombin levels in patient plasma are measured automatically on IL Coagulation Systems in two stages:

- Incubation of the plasma with the Factor Xa reagent in the presence of an excess of heparin.
- Quantification of the residual FXa activity with a synthetic chromogenic substrate. The paranitroaniline released is monitored kinetically at 405 nm and is inversely proportional to the Antithrombin level in the test sample.

**Composition**

The **Liquid Antithrombin** kit consists of:

**[S] Chromogenic substrate** (Cat. No. 0020300420): 2 x 2 mL vials of the chromogenic substrate S-2765, N-α-Z-D-Arg-Gly-Arg-pNA·2HCl (6 mg/vial), surfactant and buffer.

**[E] Factor Xa reagent** (Cat. No. 0020300410): 2 x 2 mL vials of a solution containing bovine Factor Xa (20 nkat/vial), heparin, buffer, bovine serum albumin and preservatives.

**PRECAUTIONS AND WARNINGS:**

Contains bovine material. All donor animals were sourced from BSE-free herds. The cattle received ante- and post mortem health inspection by a veterinarian, and they were apparently free from infectious and contagious material. However, the material should be treated as potentially infectious.

**Factor Xa reagent:**

**Danger** **Hazard class:** Resp. Sens. 1, H334 **Hazard statements:** H334: May cause allergy or asthma symptoms or breathing difficulties if inhaled.

**Precautionary statements:** P261: Avoid breathing vapors/spray, P284: [In case of inadequate ventilation] wear respiratory protection, P304 + P340: IF INHALED: Remove person to fresh air and keep comfortable for breathing, P342 + P311: If experiencing respiratory symptoms: Call a POISON CENTER/doctor, P501: Dispose of contents/container in accordance with local/regional/national/international regulation.

**Supplemental hazard information:** Contains Factor Xa. Up to 3.4% of the mixture consists of component of unknown acute toxicity (oral, dermal, inhalation) for the human health and unknown hazar to the aquatic environment.

**Chromogenic Substrate:**

**Hazard class:** none

**Hazard statements:** none

**Precautionary statements:** none

**Supplemental hazard information:** none

This product is For *in vitro* Diagnostic Use.

**Preparation**

**Chromogenic substrate:** Invert to mix before use.

**Factor Xa reagent:** Invert to mix before use.

**Reagent storage and stability**

Unopened reagents are stable until the expiration date shown on the vial when stored at 2-8°C.

**Chromogenic substrate** - Opened reagent is stable: 5 weeks at 2-8°C in the original vial, 8 hours at 15°C on the ACL Classic (100-7000) or 48 hours at 15°C on the ACL TOP® Family and ACL TOP Family 50 Series<sup>1</sup>. Do not freeze.

**Factor Xa reagent** - Opened reagent is stable 5 weeks at 2-8°C in the original vial, 8 hours at 15°C on the ACL Classic (100-7000) or 48 hours at 15°C on the ACL TOP Family and ACL TOP Family 50 Series<sup>1</sup>. Do not freeze.

For optimal stability remove reagents from the system and store them at 2-8°C in the original vial.

**Instrument/test procedures**

Refer to the IL instrument’s Operator’s Manual and/or Application Manual for the complete assay procedure instructions.

**Specimen collection and preparation**

Nine parts of freshly drawn venous blood are collected into one part 3.2% Trisodium citrate. Refer to CLSI Document H21-A5 for further instructions on specimen collection, handling and storage.<sup>12</sup>

**Additional reagents and control plasmas**

The following are not supplied with the kit and must be purchased separately.

	Americas and Pacific Rim Cat. No.	Europe Cat. No.
Calibration plasma	0020003700	0020003700
Normal Control	0020003120/0020003110	0020003110
Special Test Control Level 1	0020011000	0020011000
Special Test Control Level 2	0020012000	0020012000
Low Abnormal Control	0020003220/0020003210	0020003210
Factor diluent	0009757600	0009757600
Cleaning solution	0009831700	0009831700
Cleaning agent	0009832700	0009832700

**Quality control**

Normal and abnormal controls are recommended for a complete quality control program.<sup>13</sup> Normal Control, Low Abnormal Control, and Special Test Control Level 1 and 2 are designed for this program. Each laboratory should establish its own mean and standard deviation and should establish a quality control program to monitor laboratory testing. Controls should be analyzed at least once every 8 hour shift in accordance with good laboratory practice. Refer to the instrument’s Operator’s Manual for additional information. Refer to Westgard *et al* for identification and resolution of out-of-control situations.<sup>14</sup>

**Results**

Antithrombin results are reported in activity (%). Refer to the instrument’s Operator’s Manual for additional information.

**Limitations/interfering substances**

Antithrombin results on the ACL Classic (100-7000) are not affected by heparin (UF heparin or LMW heparin) up to 4 U/mL, α<sub>1</sub>-Antitrypsin up to 4 mg/mL, α<sub>2</sub>-macroglobulin up to 7 mg/mL, Heparin Cofactor II up to 4 U/mL, hemoglobin up to 150 mg/dL, bilirubin up to 40 mg/dL and triglycerides up to 500 mg/dL.

**ENGLISH - Insert revision 06/2017**



Antithrombin results on the ACL TOP Family and ACL TOP Family 50 Series<sup>1</sup> are not affected by heparin (UF heparin or LMW heparin) up to 4 U/mL, α<sub>1</sub>-Antitrypsin up to 4 mg/mL, α<sub>2</sub>-macroglobulin up to 10 mg/mL, Heparin Cofactor II up to 4 U/mL, hemoglobin up to 500 mg/dL, bilirubin up to 40 mg/dL and triglycerides up to 2300 mg/dL.

**Expected values**

Antithrombin activity levels in healthy individuals are approximately in the range of 83 -128%. Antithrombin levels are low in neonates/infants and increase to adult levels by approximately 1 year of age; levels are then slightly higher than in adults up to age 16 year.<sup>15</sup> Due to many variables which may affect results, each laboratory should establish its own normal range.

**Performance characteristics**

**Precision:**

Within run and total (run to run and day to day) precision was assessed over multiple runs using both normal and abnormal samples.

ACL Classic (100-7000)	Mean (% activity)	CV % (Within run)	CV % (Total)
Normal Control	102.6	2.54	3.51
Special Test Control Level 1	53.6	3.27	5.47
Special Test Control Level 2	22.1	7.54	11.52

ACL TOP Family	Mean (% activity)	CV % (Within run)	CV % (Total)
Normal Control	104.4	2.2	3.1
Special Test Control Level 1	62.1	3.5	3.8
Special Test Control Level 2	31.4	7.4	8.6

ACL TOP Family 50 Series <sup>1</sup>	Mean (% activity)	CV % (Within run)	CV % (Total)
Normal Control	98.7	1.6	2.2
Special Test Control Level 1	56.7	2.0	4.9
Special Test Control Level 2	26.7	6.6	7.4

Correlation: System	n	slope	intercept	r	Comparative method
ACL Classic (100-7000)	118	0.99	-2.35	0.995	HemosIL Antithrombin
ACL TOP Family	118	1.06	0.443	0.986	HemosIL Antithrombin
ACL TOP Family 50 Series <sup>1</sup>	122	0.97	-3.38	0.978	HemosIL Antithrombin on ACL TOP 500 CTS

In an additional clinical study comparing Liquid Antithrombin to Antithrombin (Cat. No. 0020008900), samples from 64 patients (26 normals, 11 undergoing heparin therapy, 5 undergoing OAT, 4 undergoing antithrombin substitution therapy, 5 with congenital AT deficiency, 5 with liver disease, 4 with DIC and 4 others with high AT) were evaluated. The correlation (r) was 0.997 on the ACL Futura/ACL Advance. The precision and correlation results were obtained using specific lots of reagents and controls.

**Detection limit:**

System	n	slope	intercept	r	Comparative method
ACL TOP Family / ACL TOP Family 50 Series <sup>1</sup>	118	0.99	-2.35	0.995	HemosIL Antithrombin

Linearity: System	n	slope	intercept	r	Comparative method
ACL Classic (100-7000)	118	0.99	-2.35	0.995	HemosIL Antithrombin
ACL TOP Family and ACL TOP Family 50 Series <sup>1</sup>	122	0.97	-3.38	0.978	HemosIL Antithrombin on ACL TOP 500 CTS

† ACL TOP Family 50 Series = ACL TOP 350 CTS; ACL TOP 550 CTS; ACL TOP 750; ACL TOP 750 CTS; ACL TOP 750 LAS

**Liquid Antithrombin - 0020300400**

**Verwendung**

Automatisierter chromogener Test zur quantitativen Bestimmung von Antithrombin in menschlichem Plasma auf IL-Analysesystemen.

**Testprinzip und Zusammenfassung**

Antithrombin (AT) oder Heparin Cofaktor II ist der Hauptinhibitor der Blutgerinnung und ist essentiell für eine effektive Heparintherapie. Als Inhibitor der Gerinnungsproteasen, besonders Thrombin, Faktor Xa und Faktor IXa, verhindert AT eine unkontrollierte Gerinnung und Thrombosebildung. Ein Antithrombin-Mangel ist mit einem hohen Risiko für thromboembolische Störungen verbunden.<sup>1,2,3</sup>

Der Antithrombin Liquid Testkit kann zum Ausschluss oder zur Diagnose eines hereditären AT-Mangels<sup>4,5</sup> in folgenden Situationen eingesetzt werden: bei Patienten mit Neigungen zu Thromboembolien, im prä-operativen Stadium, vor einer Verschreibung oraler Kontrazeptiva, bei DIC,<sup>6</sup> bei nephrotischen Syndromen, bei Lebererkrankungen<sup>7</sup> und bei Therapien mit Heparin oder Antithrombin-Konzentraten.<sup>8,9</sup> Der Antithrombin Liquid Testkit basiert auf einem synthetischen chromogenen Substrat über die Inaktivierung von Faktor Xa.<sup>10,11</sup> Es handelt sich um einen spezifischen Test, der durch Heparin Cofaktor II nicht beeinflusst wird.

Der Antithrombin-Spiegel des Patientenplasmas wird mit IL Gerinnungssystemen automatisch gemessen:

- Inkubation des Plasmas mit Faktor Xa Reagenz in Gegenwart von einem Überschuss an Heparin.
- Anschließend findet eine Quantifizierung der Restaktivität des Faktors Xa mit Hilfe eines synthetischen chromogenen Substrats statt. Das freigesetzte Paranitroanilin wird kinetisch bei einer Wellenlänge von 405 nm erfasst und ist umgekehrt proportional zum Antithrombin-Spiegel der Probe.

**Inhalt**

Die **Liquid Antithrombin** Packung enthält:

**[S] Chromogenic substrate** (Art. Nr. 0020300420): 2 Flaschen x 2 mL chromogenes Substrat (S-2765, N-α-Z-D-Arg-Gly-Arg-pNA·2HCl (6 mg/Flasche), das Detergenz und Puffer enthält.

**[E] Factor Xa reagent** (Art. Nr. 0020300410): 2 Flaschen x 2 mL einer Lösung, die Faktor Xa bovines Ursprungs (20 nkat/Flasche), Heparin, Puffer, bovines Serum-Albumin und Konservierungsmittel enthält.

**WARNING:**

Enthält bovines Material. Alle Spendertiere stammen aus BSE-freien Herden. Die Tiere durchliefen eine ante- und postmortem Gesundheitsüberprüfung durch einen Veterinär. Dabei zeigten sie sich offensichtlich frei von infektiösem und ansteckendem Material. Dennoch sollten die Materialien als potentiell infektiös behandelt werden

**Factor Xa-reagent**

**Gefahr** **Gefahrenklasse:** Resp. Sens. 1, H334 **Gefahrenhinweise:** H334: Kann bei Einatmen Allergie, asthmaartige Symptome oder Atembeschwerden verursachen.

**Sicherheitssätze:** P261: Einatmen von Dampf/Aerosol vermeiden, P284: [Bei unzureichender Belüftung] Atemschutz tragen, P304 + P340: Bei EINATMEN: Die Person an die frische Luft bringen und für ungehinderte Atmung sorgen, P342 + P311: Bei Symptomen der Atemwege: GIFTINFORMATIONSENTRUM/Arzt anrufen, P501: Inhalt/Behälter gemäß lokalen/regionaler/nationaler/internationalen Vorschriften zuführen.

**Ergänzende Gefahrenmerkmale:** Enthält Faktor Xa. Bis 3.4% dieses Gemisches besteht aus Inhaltsstoffen, deren akute Toxizität (oral, dermal, inhalatorische) für den Menschen und die Gewässer nicht bekannt ist.

**Chromogenic Substrate**

**Gefahrenklasse:** keine

**Gefahrenhinweise:** keine

**Sicherheitssätze:** keine

**Ergänzende Gefahrenmerkmale:** keine

Dieses Produkt ist nur für die *in vitro* Diagnostik geeignet

**Herstellung**

**Chromogenic substrate:** Vor dem Gebrauch vorsichtig schwenken.

**Factor Xa reagent:** Vor dem Gebrauch vorsichtig schwenken.

**Lagerung und Haltbarkeit**

Die ungeöffneten Reagenzien sind bei Lagerung zwischen 2-8°C bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum haltbar.

**Chromogenic substrate** - geöffnetes Reagenz:

- bei 2-8°C in der Originalflasche: 5 Wochen
- bei 15°C in ACL Classic (100-7000): 8 Stunden
- bei 15°C in der ACL TOP<sup>®</sup> Familie und der ACL TOP Familie 50 Serie<sup>1</sup>: 48 Stunden

Nicht einfrieren.

**Factor Xa reagent** - geöffnetes Reagenz:

- bei 2-8°C in der Originalflasche: 5 Wochen
- bei 15°C in ACL Classic (100-7000): 8 Stunden
- bei 15°C in der ACL TOP Familie und der ACL TOP Familie 50 Serie<sup>1</sup>: 48 Stunden

Nicht einfrieren.

Für eine optimale Haltbarkeit sollten die Reagenzien nach dem Gebrauch aus dem Gerät entnommen und im Kühlschrank bei 2-8°C in der Originalflasche aufbewahrt werden.

**Bestimmungsansatz**

Die ausführliche Beschreibung des Bestimmungsansatzes ist dem Geräte-Bedienerhandbuch und/oder dem Applikationshandbuch zu entnehmen.

**Probenmaterial und -gewinnung**

9 Teile frisches venöses Blut und 1 Teil 3,2% Trinatriumcitratlösung werden sorgfältig in einem silikonisierten Glasröhrchen gemischt. Hinweise zur Aufbereitung des Blutes sind den Empfehlungen des Deutschen Instituts für Normung - DIN 58 905 – oder dem CLSI Dokument H21-A5 zu entnehmen.<sup>12</sup>

**Zusätzliche Reagenzien und Kontrollplasmas**

Die folgenden Reagenzien sind nicht in der Packung enthalten und müssen zusätzlich bestellt werden:

	Amerikan. und Pazifischer Raum Art. Nr.	Europa Art. Nr.
Kalibrationsplasma	0020003700	0020003700
Normal-Kontroll-Plasma	0020003120/0020003110	0020003110
Spezialtest-Kontrolle Bereich 1	0020011000	0020011000
Spezialtest-Kontrolle Bereich 2	0020012000	0020012000
Low Abnormal-Kontroll-Plasma	0020003220/0020003210	0020003210
Faktor Diluent	0009757600	0009757600
Reinigungslösung	0009831700	0009831700
Reinigungslösung	0009832700	0009832700

**Qualitätskontrolle**

Es ist gängige Labormethodik, die Qualität der Analyse mit Kontrollmaterialien im normalen sowie im pathologischen Bereich zu überprüfen.<sup>13</sup> Es wird empfohlen, als Kontrollmaterial die oben angegebenen Kontrollen zu verwenden. Die Bereiche sind der jeweiligen Packungsbeilage zu entnehmen. Jedes Labor sollte seinen eigenen Kontrollbereich ermitteln. Spätestens nach jeweils 8 Stunden sollte eine Qualitätskontrolle durchgeführt werden. Algorithmen zur Beurteilung der Qualitätskontrollergebnisse siehe z.B Westgard *et al*.<sup>14</sup>

Siehe auch "Richtlinien der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung quantitativer laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen" in der jeweils gültigen Fassung.

**Ergebnisse**

Antithrombin Ergebnisse werden in Aktivität (%) dargestellt. Zusätzliche Informationen sind dem Bedienerhandbuch zu entnehmen.

**Einschränkungen**

Antithrombin Ergebnisse auf ACL Classic (100-7000) Analysensystemen werden durch Konzentrationen an Heparin (unfraktionierte oder niedermolekulare Heparine) bis zu 4 U/mL, α<sub>1</sub>-Antitrypsin bis zu 4 mg/mL, α<sub>2</sub>-Macroglobulin bis zu 7 mg/mL, Heparin Cofactor II bis zu 4 U/mL, Hämoglobin bis zu 150 mg/dL, Bilirubin bis zu 40 mg/dL und Triglyceriden bis zu 500 mg/dL nicht beeinflusst.

**DEUTSCH - Packungsbeilage Version 06/2017**



Antithrombin Ergebnisse auf der ACL TOP Familie und der ACL TOP Familie 50 Serie<sup>1</sup> werden durch Konzentrationen an Heparin (unfraktionierte oder niedermolekulare Heparine) bis zu 4 U/mL, α<sub>1</sub>-Antitrypsin bis zu 4 mg/mL, α<sub>2</sub>-Macroglobulin bis zu 10 mg/mL, Heparin Cofactor II bis zu 4 U/mL, Hämoglobin bis zu 500 mg/dL, Bilirubin bis zu 40 mg/dL und Triglyceriden bis zu 2300 mg/dL nicht beeinflusst.

**Referenzbereiche**

Die Spiegel der Antithrombin-Aktivität in gesunden Personen liegen etwa im Bereich von 83 – 128%. Antithrombin-Werte sind erniedrigt bei Neugeborenen/Säuglingen, sie steigen bis zum Alter von etwa 1 Lebensjahr auf die Erwachsenenerwerte an; die Werte sind dann etwas höher als bei Erwachsenen bis zum Alter von 16 Jahren.<sup>15</sup> Aufgrund verschiedener Variablen, die die Gerinnungsergebnisse beeinflussen können, wird empfohlen, dass jedes Labor seinen eigenen Normalbereich ermittelt.

**Testcharakteristik**

**Präzision:** Die Präzision im Lauf und von Tag zu Tag wurde bei mehreren Läufen mit Normal- und Abnormal-Kontrollen bestimmt.

ACL Classic (100-7000)	Mittelwert (Aktivität %)	VK % (im Lauf)	VK % (gesamt)
Normal-Kontroll-Plasma	102,6	2,54	3,51
Spezialtest-Kontrolle Bereich 1	53,6	3,27	5,47
Spezialtest-Kontrolle Bereich 2	22,1	7,54	11,52

ACL TOP Familie	Mittelwert (Aktivität %)	VK % (im Lauf)	VK % (gesamt)
Normal-Kontroll-Plasma	104,4	2,2	3,1
Spezialtest-Kontrolle Bereich 1	62,1	3,5	3,8
Spezialtest-Kontrolle Bereich 2	31,4	7,4	8,6

ACL TOP Familie 50 Serie <sup>1</sup>	Mittelwert (Aktivität %)	VK % (im Lauf)	VK % (gesamt)
Normal-Kontroll-Plasma	98,7	1,6	2,2
Spezialtest-Kontrolle Bereich 1	56,7	2,0	4,9
Spezialtest-Kontrolle Bereich 2	26,7	6,6	7,4

Correlation: System	n	Steigung	Ordinatenabschnitt	r	Referenzmethode
ACL Classic (100-7000)	118	0,99	-2,35	0,995	HemosIL Antithrombin
ACL TOP Familie	118	1,06	0,443	0,986	HemosIL Antithrombin
ACL TOP Familie 50 Serie <sup>1</sup>	122	0,97	-3,38	0,978	HemosIL Antithrombin am ACL TOP 500 CTS

In einer zusätzlichen Vergleichsstudie zwischen dem Antithrombin Liquid und dem Antithrombin (Art. Nr. 0020008900), wurden 64 Patientenplasmen (26 normale, 11 mit Heparintherapie, 5 mit OAT, 4 mit Antithrombin-Substitutionstherapie, 5 mit angeborenem AT-Mangel, 5 mit Lebererkrankungen, 4 mit DIC und 4 andere mit hohen AT-Werten) untersucht. Die Korrelation (r) am ACL Futura/ACL Advance betrug 0,997.



**Liquid Antithrombin** 0020300400

---

Printed Insert Sheet: 303521  
Revision: R7  
Issued: 06/2017  
C.O.: 479945

**LANGUAGES**

---

ENGLISH  
GERMAN  
SPANISH  
FRENCH  
ITALIAN  
PORTUGUESE  
**TECHNICAL SPECS**

---

PAPER: White paper, 50-60 g/m<sup>2</sup> weight, PCS00400073.  
SIZE: 11 x 17" (280 x 432 mm.).  
PRINT: Front/Back.  
PRINT COLOR: Front - Top band Green Pantone 382, Red PMS 179 or equivalent where used, all remaining type in black.  
Back - All type in black, Red PMS 179 or equivalent where used.