



ARGATROBAN® PLASMA CALIBRATOR Ref SC030K

Calibration plasmas for the assay of Argatroban® with anti-IIa method

For in vitro diagnostic use only

HYPHEN BioMed

ZAC Neuville Université - 155, rue d'Eragny
95000 Neuville-sur-Oise - France
Tel. 01 34 40 65 10 - Fax: 01 34 48 72 36
www.hyphen-biomed.com



Last revision : 21/09/2009

ENGLISH

INTENDED USE:

Argatroban® Plasma Calibrator is a set of calibration plasmas for Argatroban® (also called Argatra®, Arganova®, or Novastan®), measurements, titrated and optimised using the anti-IIa clotting assay **HEMOCLOT THROMBIN INHIBITORS (CK002K)**. Argatroban® Plasma Calibrator allows calibrating the assays of Argatroban® using clotting anti-IIa methods, especially when the HEMOCLOT Thrombin Inhibitors kit is used, with the low range protocol.

SUMMARY AND EXPLANATION:

Argatroban® is a synthetic Direct Thrombin Inhibitor, which can be used as an anticoagulant for curative indications, mainly in emergency situations. Measuring Argatroban® concentration in patients' plasma allows monitoring the therapy and adjusting drug dosage. Argatroban® Plasma Calibrators are used in order to establish the calibration curve for Argatroban® clotting assays.

REAGENTS SUPPLIED:

20 vials (4 sets of 5 vials) of 1 ml human plasma supplemented with different concentrations of Argatroban® (4 vials for each concentration).

CAL 1: Calibrator 1: 1mL 4 vials.
Human plasma, freeze-dried, without any addition of Argatroban® (level 1 at 0 µg/ml) (to be restored with 1 mL distilled water).

CAL 2: Calibrator 2: 1mL 4 vials.
Human plasma, freeze-dried, supplemented with Argatroban® (level 2 at about 0.5 µg/ml) (to be restored with 1 mL distilled water).

CAL 3: Calibrator 3: 1mL 4 vials.
Human plasma, freeze-dried, supplemented with Argatroban® (level 3 at about 1.0 µg/ml) (to be restored with 1 mL distilled water).

CAL 4: Calibrator 4: 1mL 4 vials.
Human plasma, freeze-dried, supplemented with Argatroban® (level 4 at about 1.50 µg/ml) (to be restored with 1 mL distilled water).

CAL 5: Calibrator 5: 1mL 4 vials.
Human plasma, freeze-dried, supplemented with Argatroban® (level 5 at about 2.00 µg/ml) (to be restored with 1 mL distilled water).

The exact concentration of Argatroban® in each vial is indicated on the flyer provided in each kit. The calibration curve covers the range from 0 to about 2.0 µg/ml.

Note:

- Calibrator plasmas contain an antibiotic as preservative (ciprofloxacin).
- Each donor unit used for the preparation of calibration plasmas is a human plasma, which has been tested with registered methods for the presence of Hepatitis B Surface Antigen, Hepatitis C Antibodies (HVC) and antibodies to HIV 1 and 2 and was found negative. However, no test can completely exclude the presence of infectious agents. Any product of human origin, and more especially plasma, must be considered as being potentially infectious and must be handled with all the required cautions for this kind of material.

STORAGE CONDITIONS:

Unopened reagents, must be stored at 2–8 °C. Kept in their original packaging they are then stable until the expiration date printed on the label.

Note: The stability studies at 30°C show that the reagents can be shipped at room temperature without damage.

PREPARATION AND STABILITY OF REAGENTS:

Preparation:

- Reconstitute each vial with exactly 1 mL of distilled water.
- Shake thoroughly until complete dissolution of the content (vortex).
- Incubate at room temperature (18–25°C) for 30 min, while shaking the vial from time to time.
- Homogenise the content before each use.

Stability:

Lyophilised: Kept in the original packaging, the reagents are stable until the expiration date indicated on the labels.

Reconstituted:

- 7 days at 2–8°C.
 - 48 hours at room temperature.
- Do not freeze.

Cautions:

- In order to improve stability, reagents must be closed with their original screw caps following each use.
- Reagents must be handled with care, in order to avoid any contamination during use.
- It is recommended to homogenize each vial before use, in order to have a good reproducibility, all the time.

CALIBRATION RANGE:

Each Argatroban® Plasma Calibrator kit contains 4 sets of 5 vials supplemented with increasing concentrations of Argatroban®.

The following values, obtained for one lot of Argatroban® Plasma Calibrator (on water bath, ACL and/or STAR), are provided as an example only.

Calibrator	Argatroban® concentration (µg/ml)	Intra assay		Inter assay	
		N	SD	N	SD
CAL 1	0	10	na	9	na
CAL 2	0.60	10	0.04	9	0.05
CAL 3	1.15	10	0.06	9	0.08
CAL 4	1.55	10	0.06	9	0.08
CAL 5	2.02	10	0.08	9	0.15

The exact concentration may present variations from lot to lot, but it is exactly indicated for each lot, on the flyer provided in the kit.

This concentration is exactly defined against an Internal reference Standard, initially validated against a reference preparation of fresh Argatroban® diluted into a normal human plasma pool.

The concentrations have been optimised and are guaranteed with the HEMOCLOT Thrombin Inhibitors kit.

The calibration curve covers the range from 0 to about 2.0 µg/ml.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS:

Argatroban® Plasma Calibrators allow establishing the calibration curve for the measurement of Argatroban® in plasma, especially with Anti-IIa methods. Using the **HEMOCLOT Thrombin Inhibitors (ref. CK002K)** kit, Argatroban® is measured with the **low range protocol**, and the assay is linear up to about 2 µg/ml using the manual method or the STA-R instrument.

The calibration curve obtained covers the usual concentrations currently observed during Argatroban® therapy.

The **Argatroban® Control Plasma (ref SC035K)** can be used in order to obtain an homogeneous quality control system.

The HEMOCLOT Thrombin Inhibitors anti-IIa method, used according to the **low range protocol**, for the measurement of Argatroban® concentrations in plasma, offers a sensitivity threshold of about 0.05 µg/ml.

If used with other kits, results can vary according to the assay reactivity and its standardization: each laboratory must then determine and validate the suitability for use in its specific test conditions. Chromogenic assays are not suitable for measuring Argatroban® at therapeutic levels.

CAUTIONS:

- Like all lyophilised plasmas, the calibration plasmas from the Argatroban® Plasma Calibrator are more or less cloudy after reconstitution. This is due essentially to the lipids that, after lyophilisation, become less soluble and can form a light deposit.
- If necessary, let each vial 10 minutes at room temperature and shake gently before use in order to homogenise the content.
- Reagents must be handled with care, in order to avoid any contamination or activation during use. Any plasma containing a coagulum or contamination must be rejected.

REFERENCES:

- Matsuo T, "Argatroban: Antithrombotic therapy in Clinical Practice", 2007, Kobe research projects on thrombosis and Haemostasis.
- Satellite symposium of the XXist ISTH congress, "Landmarks in anti-thrombin drug development: the argatroban story", Mitsubishi Tanabe Pharma Corporation, 2007.
- Koster et al, "Anticoagulation with Argatroban in patients with heparin-induced thrombocytopenia antibodies after cardiovascular surgery with cardiopulmonary bypass: first results from the ARG-E03 trial", J. of Thoracic and Cardiovasc. surgery, 2006; 132(3):699-700.
- Reddy B et al, "Argatroban anticoagulation in patients with Heparin-Induced Thrombocytopenia requiring renal replacement therapy", Ann Pharmacother, 2005; 39:1601-5.
- Fareed J, Jeske P, "Small-molecule direct antithrombins: argatroban", Best Practice and Research Clinical Haematology, 2004; 17(1): 127-138.
- Lewis et al, "Argatroban anticoagulation in patients with Heparin-Induced Thrombocytopenia", Arch Intern Med, 2003; 163:1849-1856.
- Fenyvesi T et al, "Influence of lepirudin, argatroban, and melagatran, on Prothrombin Time and additional effect of oral anticoagulation", Clinical chemistry, 2002; 48(2): 1791-1794.
- www.argatroban.com



ARGATROBAN® PLASMA CALIBRATOR Ref SC030K

HYPHEN BioMed

Gamme de plasmas humains, à titre défini en Argatroban®
pour l'étalonnage des dosages d'Argatroban® par méthode anti-IIa

Pour diagnostic in vitro exclusivement

Dernière révision : 21/09/2009

FRANCAIS

UTILISATION :

Le coffret Argatroban® Plasma Calibrator est constitué de quatre gammes de plasmas humains, lyophilisés, surchargés en Argatroban® (également nommé Argatra®, Arganova®, ou Novastan®), et titrés par la technique anti-IIa, HEMOCLOT Thrombin Inhibitors (réf. CK002K).

Ce coffret sert à étalonner les méthodes de dosage d'Argatroban®, et a été optimisé avec les réactifs HEMOCLOT Thrombin Inhibitors, en respectant strictement le protocole opératoire indiqué pour la gamme basse.

COMPOSITION :

Le coffret Argatroban® Plasma Calibrator contient 4 gammes d'étalonnage en 5 points, allant de 0 à 2 µg/ml environ (4 flacons pour chaque concentration, soit 20 flacons au total).

CAL1 : Calibrateur 1:

Plasma humain, lyophilisé, ne contenant pas d'Argatroban®.
4 flacons de 1 ml

CAL2 : Calibrateur 2:

Plasma humain, lyophilisé, contenant une quantité connue d'Argatroban®, d'environ 0,50 µg/ml.
4 flacons de 1 ml

CAL3 : Calibrateur 3:

Plasma humain lyophilisé, contenant une quantité connue d'Argatroban®, d'environ 1,0 µg/ml.
4 flacons de 1 ml

CAL4 : Calibrateur 4:

Plasma humain lyophilisé, contenant une quantité connue d'Argatroban®, d'environ 1,50 µg/ml.
4 flacons de 1 ml

CAL5 : Calibrateur 5:

Plasma humain lyophilisé, contenant une quantité connue d'Argatroban®, d'environ 2,00 µg/ml.
4 flacons de 1 ml

Le taux exact d'Argatroban® pour chaque niveau de calibrateur est indiqué sur le papillon fourni dans le coffret.

Nota:

- Chaque poche de plasma humain, utilisée dans la préparation du coffret Plasma Argatroban® Calibrator, provient de donneurs sains. Pour chaque plasma utilisé, la présence de l'antigène HBs, des anticorps anti-VIH1 et anti-VIH2 et anti-HCV a été recherchée, au moyen de méthodes homologuées, et a été trouvée négative. Néanmoins, aucun test ne permet d'exclure totalement la présence d'agents infectieux. C'est pourquoi les plasmas doivent être manipulés et éliminés avec toutes les précautions requises pour l'utilisation de produits potentiellement infectieux.
- Les plasmas lyophilisés contiennent un bactériostatique (ciprofloxacine) comme conservateur.

CONSERVATION :

Le coffret intact doit être conservé à 2-8°C. Dans leur emballage d'origine, les réactifs sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette.

Remarque : Les études de vieillissement, réalisées à 30°C pendant 3 semaines, montrent que les réactifs peuvent être expédiés à température ambiante, sans aucun dommage.

PREPARATION ET STABILITE DES REACTIFS :

Préparation :

- Reconstituer chaque flacon détalonnage exactement par 1 mL d'eau distillée.
- Bien agiter lors de la reconstitution (vortex) jusqu'à dissolution complète. Laisser stabiliser à température ambiante (18-25°C) pendant 30 min, en agitant de temps en temps.
- Bien homogénéiser avant toute utilisation.

Stabilité après reconstitution :

Conservé dans son flacon d'origine, la stabilité du réactif est de :

- 7 jours à 2-8°C.
- 48 heures à température ambiante (18-25°C).

Ne pas congeler.

Précautions :

- Pour assurer une bonne stabilité des réactifs, refermer les flacons après usage, avec leurs bouchons respectifs, ou fermer les micro contenueurs en plastique dans lesquels les plasmas pourraient être transvasés, en fonction du protocole et de l'instrument utilisé.
- Manipuler les réactifs avec les précautions d'usage afin d'éviter toute contamination.
- Il est conseillé d'homogénéiser les plasmas de calibration avant l'emploi, et de façon régulière, afin de les maintenir homogènes au cours du temps.

EXEMPLE DE VALEURS :

Chaque coffret Argatroban® Plasma Calibrator contient 4 séries de 5 flacons de plasma de calibration avec des concentrations croissantes d'Argatroban®. Les valeurs ci-dessous, obtenues pour un lot de Argatroban® Plasma Calibrator, sont fournies uniquement à titre d'exemple :

Calibrateur	Concentration d'Argatroban® (µg/ml)	Intra essai		Inter essais	
		N	SD	N	SD
CAL 1	0	10	na	9	na
CAL 2	0.60	10	0.04	9	0.05
CAL 3	1.15	10	0.06	9	0.08
CAL 4	1.55	10	0.06	9	0.08
CAL 5	2.02	10	0.08	9	0.15

Le taux d'Argatroban® des plasmas de calibration peut varier légèrement d'un lot à l'autre mais est indiqué précisément pour chaque lot, sur le papillon joint.

Le taux d'Argatroban® de ces plasmas est déterminé précisément, pour chaque lot, par rapport au Standard Interne de référence, initialement validé par rapport à une préparation fraîche d'Argatroban® de référence, diluée en pool de plasma humain normal citraté.

Ces taux sont garantis et ont été optimisés avec le kit HEMOCLOT Thrombin Inhibitors, en utilisant le protocole gamme basse.

Ces plasmas d'étalonnage permettent d'obtenir une courbe de calibration allant de 0 à environ 2.0 µg/ml.

PERFORMANCES :

Les plasmas de calibration du coffret Argatroban® Plasma Calibrator permettent de réaliser une courbe d'étalonnage pour la mesure des taux d'Argatroban® dans le plasma par méthode anti-IIa : lorsque le kit HEMOCLOT Thrombin Inhibitors (ref. CK002K) est utilisé selon le protocole gamme basse, le test est linéaire jusqu'à environ 2 µg/ml en méthode manuelle et sur STA-R.

La courbe de calibration obtenue couvre les concentrations usuellement observées lors des traitements Argatroban®.

Les plasmas Argatroban® Control Plasma (réf. SC035K) peuvent être utilisés comme système homogène de contrôle de qualité.

La méthode HEMOCLOT Thrombin Inhibitors, utilisée en **gamme basse** pour mesurer l'Argatroban® dans le plasma, a une sensibilité d'environ 0.05 µg/ml.

Si utilisés avec d'autres kits de dosage, les valeurs peuvent différer en fonction de la réactivité des coffrets et de leur standardisation : chaque laboratoire doit déterminer la validité de l'usage de ces calibrants pour chaque application spécifique. Les méthodes chromogènes ne conviennent pas pour doser l'Argatroban® dans la zone thérapeutique.

LIMITES :

- Comme tout plasma lyophilisé, les plasmas de calibration du coffret Argatroban® Plasma Calibrator sont plus ou moins troubles après reconstitution. Ce trouble est essentiellement lié aux lipides plasmatiques qui, après lyophilisation, deviennent « moins » solubles et peuvent former un léger dépôt.
- Si nécessaire, laisser les flacons 10 minutes à température ambiante et agiter délicatement avant utilisation pour bien homogénéiser le contenu.
- Eviter toute contamination ou activation du plasma lors de l'utilisation. Tout plasma présentant des coagulums ou des signes de contamination bactériologique ou fongique doit être rejeté.

REFERENCES :

1. Matsuo T, "Argatroban: Antithrombotic therapy in Clinical Practice", 2007, Kobe research projects on thrombosis and Haemostasis.
2. Satellite symposium of the XXist ISTH congress, "Landmarks in anti-thrombin drug development: the argatroban story", Mitsubishi Tanabe Pharma Corporation, 2007.
3. Koster et al, "Anticoagulation with Argatroban in patients with heparin-induced thrombocytopenia antibodies after cardiovascular surgery with cardiopulmonary bypass: first results from the ARG-E03 trial", J. of Thoracic and Cardiovasc. surgery, 2006; 132(3):699-700.
4. Reddy B et al, "Argatroban anticoagulation in patients with Heparin-Induced Thrombocytopenia requiring renal replacement therapy", Ann Pharmacother, 2005; 39:1601-5.
5. Fareed J, Jeske P, "Small-molecule direct antithrombins: argatroban", Best Practice and Research Clinical Haematology, 2004; 17(1): 127-138.
6. Lewis et al, "Argatroban anticoagulation in patients with Heparin-Induced Thrombocytopenia", Arch Intern Med, 2003; 163:1849-1856.
7. Fenyvesi T et al, "Influence of lepirudin, argatroban, and melagatran, on Prothrombin Time and additional effect of oral anticoagulation", Clinical chemistry, 2002; 48(2): 1791-1794.
8. www.argatroban.com