

COAMATIC® Heparin - 82 3393 63

Intended Use

For the quantitative determination of unfractionated heparin (UF Heparin) or low molecular weight heparin (LMW Heparin) in human citrated plasma using automated and microplate methods.

Background and summary

Heparin is the most frequently used antithrombotic therapeutic.

The biological activity of this sulfated glycosaminoglycan resides in its ability to accelerate (up to 2000-fold) the heparin effect of antithrombin (AT) on the coagulation proteases. The amount of LMW Heparin or UF Heparin is determined from the anti-FXa activity expressed by the [AT + Heparin] complex formed in plasma.^{1,3}

Measuring principle

Heparin + AT → [AT + Heparin]

[AT + Heparin] + FXa (excess) → [FXa + AT + Heparin] + FXa (residual)

FXa (residual) + S-2732 → Peptide + pNA

Factor Xa (FXa) is added to a mixture of undiluted plasma and the chromogenic substrate S-2732.

When Heparin and AT are complexed, two competing reactions occur simultaneously:

- Inhibition of FXa by the [AT + Heparin] complex.
- Reaction of FXa with S-2732 resulting in cleavage of pNA.

The pNA release measured at 405 nm is inversely proportional to the heparin level in the sample.¹

In order to reduce the influence from heparin antagonists, such as platelet factor 4 (PF4), dextran sulfate is included in the reaction mixture.⁴

Reagents

- S-2732, 15 mg** 2 vials
Chromogenic substrate, Suc-Ile-Glu(y-pip)-Gly-Arg-pNA • HCl lyophilized with detergent and mannitol as bulking agent.
- Factor Xa, 35 nkat** 2 vials
Lyophilized bovine FXa containing Tris buffer, EDTA, NaCl, dextran sulfate and bovine serum albumin.

PRECAUTIONS AND WARNINGS:

Factor Xa
⚠ **Danger**
Hazard class: Resp Sens. 1, H334. Eye Irrit. 2, H319. Skin Irrit. 2, H315
Hazard statements: H334: May cause allergy or asthma symptoms or breathing difficulties if inhaled. H315: Causes skin irritation. H319: Causes serious eye irritation.
Precautionary statements: P261: Avoid breathing dust/fume. P280: Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face 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. P305 + P351 + P338: IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing. P337 + P313: If eye irritation persists: Get medical advice/attention. P302 + P352: IF ON SKIN: Wash with plenty of water. P333 + P313: If skin irritation or rash occurs: Get medical advice/attention.
Supplemental hazard information: Contains Factor Xa. Up to 6% of the mixture consists of component of unknown acute toxicity (oral, dermal, inhalation) for the human health and unknown hazard to the aquatic environment.
S-2765
Hazard class: none
Hazard statements: none
Precautionary statements: none
Supplemental hazard information: ~ 2% of the mixture consists of component of unknown acute toxicity (dermal, inhalation) for the human health and unknown hazard to the aquatic environment. This product is for *in vitro* diagnostic use.

Reagent preparation:
For the microplate method reconstitute REAGENTS 1 and 2 with 5.0 mL of water (see REAGENTS 3). Replace the stoppers and swirl gently. Make sure of the complete reconstitution of the product. Keep reagent at 15-25°C for 10-30 min and invert before use.
NOTE: Other reagent reconstitution volumes may apply for automated methods. (See section: INSTRUMENT APPLICATIONS). The reagents are not interchangeable between lots.

Reagents required but not provided:

- Deionized water filtered through 0.22 µm or NCCLS type II water.⁵
- Acetic acid 20% or citric acid 2% (end-point method).
- Saline (0.9% NaCl).
- Human normal plasma.
- Calibrator plasma for LMW Heparin and/or UF Heparin calibrated against International Standards.
- Controls for LMW Heparin and/or UF Heparin activity.

NOTE: Antithrombin reagent and tris buffer is required for the ACL Hundred/Thousand Series method (the assay is run as a two stage method with the addition of antithrombin). See the instrument Application Sheet for specific information.

Materials required but not provided:

- Spectrophotometer 405 nm (and 490 nm for the microplate procedure)
- Incubator 37°C
- Microplates*
- Centrifuge, 2000 x g
- Plastic test tubes
- Stopwatch
- Vortex mixer
- Calibrated pipettes
- Linear graph paper

*NOTE: Do not use microplates intended for coating

Storage conditions and stability

The sealed reagents are stable at 2-8°C until the expiry date printed on the label.

- S-2732:** Stability after reconstitution: 3 months at +2-8°C in the original vial.
- Factor Xa:** Stability after reconstitution: 3 months at +2-8°C in the original vial.

WARNING: Do not use reagents before the expiry date printed on the package label. Substrate - Avoid exposure to light. Discard the substrate solution if it appears yellow. Avoid contamination by microorganisms.

Specimen collection

Nine parts of freshly drawn venous blood is collected into one part trisodium citrate. Centrifugation: 2000 x g for 20 minutes at 20-25°C. Refer to NCCLS document H21-A2 for further instructions on specimen collection, handling and storage.⁶

Quality Controls

Two levels of heparin controls, calibrated against International standards, are recommended for a complete quality control program.⁷ Each laboratory should establish its own mean and standard deviation and should establish a quality program to monitor laboratory testing. Controls should be analyzed at least once every 8 hour shift in accordance with good laboratory practice. Refer in Westgard et al. for identification and resolution for out-of-control situations.⁸

Results

Heparin results are reported in activity (IU/mL).

Expected values

To obtain an optical effect with minimum risk of bleeding or thromboembolic complications the heparin should be in the range recommended by the manufacturer.⁹

Procedures

All conditions included in this package insert are referred to Microplate method and Cobas Mira. Detailed instrument settings including instructions for preparation of the reagents for a variety of automated instruments are available on request from Chromogenix.

Assay condition for microplate and test tube techniques

Dilutions of samples and controls.

Samples/controls/standards	100 µL	300 µL
Water (see REAGENTS 3)		
Mix well		
Add diluted samples/controls/standards to the microplate wells	50 µL	
Incubate at 37°C for 2-6 min		
Add S-2732 (pre-heated at 37°C)	50 µL	
Mix and add within 2 min Factor Xa (pre-heated at 37°C)	50 µL	
Mix and incubate at +37°C for 120 sec.		
Stop reaction with acetic acid 20% or citric acid 2%	50 µL	

Read the absorbance against water (see REAGENT 3) at 405 nm.

If possible, read and subtract the absorbance at 490 nm in order to compensate for differences in the material of the microplate wells.

Calibration

For the calibration of LMW Heparin or UF Heparin use a source of material which has been calibrated against an International Standard preparation.

For example: To prepare standards for 10 runs.
i. Dilute heparin with saline (0.9% NaCl) to obtain a working solution with a value of 100 IU/mL
ii. Add 160 µL of the heparin working solution to 20.0 mL of normal plasma to obtain the heparin concentration of 0.8 IU/mL. Dilute according to the table below.

Standard IU/mL	Plasma with heparin 0.8 IU/mL	Normal plasma mL
0	-	4.0
0.2	1.0	3.0
0.4	2.0	2.0
0.6	3.0	1.0
0.8	4.0	-

These standards can be kept in aliquots at -20°C for 12 months.

ENGLISH - Insert revision 05/2016

Calculation

Microplate Method:
Plot the absorbance (A) for the standards against the concentration of heparin using an appropriate software program or on linear graph paper. Plot A on the Y-axis and IU/mL heparin on the X-axis. Connect the standard points with the best fitting second order polynomial line. Samples and controls are evaluated based on this standard curve. Examples of typical standard curves (microplate method), Standard curve Unfractionated heparin and Standard curve LMW Heparin, are shown on the back of this sheet.

Performance characteristics

Limitations/interfering substances
Heparin results are not affected by hemoglobin up to 200 mg/dl, triglycerides up to 600 mg/dl and bilirubin up to 12 mg/dl.
The presence of dextran sulfate reduces the influence from heparin antagonists, e.g. platelet factor 4 (PF4).⁴

Precision:
Microplate method. The data summarized below was obtained with the microplate method using unfractionated heparin (UFH) and low molecular weight heparin (LMWH).

Mean concentration	Within run C.V. (%)	Between run C.V. (%)	Total C.V. (%)
0.7 IU/mL UFH	2.8	1.2	2.8
0.4 IU/mL UFH	3.4	1.5	3.7
0.7 IU/mL LMWH	3.6	2.8	4.4
0.4 IU/mL LMWH	2.4	2.3	3.2

Examples of instrument-specific precision results obtained by or for Chromogenix are included in the instrument application sheets.
Each laboratory should establish their own precision data.

Correlation:

- The COAMATIC® Heparin assay shows good correlation with COATEST® Heparin and COATEST® LMW Heparin/Heparin performed on the Cobas Mira instrument:
COAMATIC® Heparin versus COATEST® Heparin (n = 112)
IU/mL Heparin = +0.005 + 1.00 x Heparin, r = 0.97
COAMATIC® Heparin versus COATEST® LMW Heparin/Heparin (n = 90)
IU/mL Heparin = +0.002 + 1.04 x Heparin, r = 0.96
- The COAMATIC® Heparin (performed on various Instruments) versus IL Test™ Heparin performed on the ACL 300 Instrument

Microplate	(n = 70)	IU/mL Heparin = +0.017 + 1.00x Heparin,	r = 0.97
Instruments			
Cobas Mira	(n = 87)	IU/mL Heparin = -0.012 + 1.04x Heparin,	r = 0.98
ACL 300†	(n = 62)	IU/mL Heparin = +0.004 + 1.03x Heparin,	r = 0.98
Futura	(n = 113)	IU/mL Heparin = +0.009 + 0.97x Heparin,	r = 0.97
MLA Electra 1600	(n = 80)	IU/mL Heparin = +0.004 + 1.01x Heparin,	r = 0.97
Thrombolyzer*	(n = 76)	IU/mL Heparin = +0.008 + 0.92x Heparin,	r = 0.97
BCS*	(n = 30)	IU/mL Heparin = +0.008 + 0.93x Heparin,	r = 0.99
STA*	(n = 29)	IU/mL Heparin = +0.017 + 0.96x Heparin,	r = 0.99
Sysmex 6000	(n = 30)	IU/mL Heparin = +0.061 + 0.91x Heparin,	r = 0.99
AMAX	(n = 30)	IU/mL Heparin = +0.028 + 0.97x Heparin,	r = 0.99
AMGA*	(n = 30)	IU/mL Heparin = -0.061 + 1.02x Heparin,	r = 0.99
Hitachi 911	(n = 30)	IU/mL Heparin = +0.014 + 0.98x Heparin,	r = 0.99
Hitachi 917	(n = 30)	IU/mL Heparin = +0.021 + 1.00x Heparin,	r = 0.98

*NOTE: Instrument not available in all countries.
†NOTE: In the case of the ACL Hundred/Thousand Series, the assay is run as a two-stage method with the addition of antithrombin reagent. See the Instrument Application Sheet for specific information.

Recommended measuring range
For the microplate method the relationship between the heparin concentration and the pNA release, measured as absorbance at 405 nm, follows a second order polynomial function in the range of 0-1.5 IU/mL.

Sensitivity: System

Cobas Mira mAbs / min per 1IU/mL Heparin 333 mAbs

Determinations/kit

Microplate: 200

COAMATIC® Heparin - 82 3393 63

Verwendungszweck

Quantitative Bestimmung von unfractioniertem Heparin (UF Heparin) oder niedermolekularem Heparin (LMW Heparin) in menschlichem Citratplasma unter Verwendung von automatischen Methoden oder Mikrotiterplatten.

Hintergrund und Zusammenfassung

Heparin ist das am häufigsten verwendete antithrombotische Medikament. Die biologische Aktivität dieses sulfatierten Glucosaminoglykans beruht auf seiner Fähigkeit, die inhibitorische Wirkung von Antithrombin (AT) auf die an der Blutgerinnung beteiligten Proteasen zu beschleunigen (bis zu 2000fach).
Die biologische Aktivität dieses sulfatierten Glucosaminoglykans beruht auf seiner Fähigkeit, die inhibitorische Wirkung von Antithrombin (AT) auf die an der Blutgerinnung beteiligten Proteasen zu beschleunigen (bis zu 2000fach).

Die biologische Aktivität dieses sulfatierten Glucosaminoglykans beruht auf seiner Fähigkeit, die inhibitorische Wirkung von Antithrombin (AT) auf die an der Blutgerinnung beteiligten Proteasen zu beschleunigen (bis zu 2000fach).

Die biologische Aktivität dieses sulfatierten Glucosaminoglykans beruht auf seiner Fähigkeit, die inhibitorische Wirkung von Antithrombin (AT) auf die an der Blutgerinnung beteiligten Proteasen zu beschleunigen (bis zu 2000fach).

Die biologische Aktivität dieses sulfatierten Glucosaminoglykans beruht auf seiner Fähigkeit, die inhibitorische Wirkung von Antithrombin (AT) auf die an der Blutgerinnung beteiligten Proteasen zu beschleunigen (bis zu 2000fach).

Die biologische Aktivität dieses sulfatierten Glucosaminoglykans beruht auf seiner Fähigkeit, die inhibitorische Wirkung von Antithrombin (AT) auf die an der Blutgerinnung beteiligten Proteasen zu beschleunigen (bis zu 2000fach).

Die biologische Aktivität dieses sulfatierten Glucosaminoglykans beruht auf seiner Fähigkeit, die inhibitorische Wirkung von Antithrombin (AT) auf die an der Blutgerinnung beteiligten Proteasen zu beschleunigen (bis zu 2000fach).

Die biologische Aktivität dieses sulfatierten Glucosaminoglykans beruht auf seiner Fähigkeit, die inhibitorische Wirkung von Antithrombin (AT) auf die an der Blutgerinnung beteiligten Proteasen zu beschleunigen (bis zu 2000fach).

Die biologische Aktivität dieses sulfatierten Glucosaminoglykans beruht auf seiner Fähigkeit, die inhibitorische Wirkung von Antithrombin (AT) auf die an der Blutgerinnung beteiligten Proteasen zu beschleunigen (bis zu 2000fach).

Die biologische Aktivität dieses sulfatierten Glucosaminoglykans beruht auf seiner Fähigkeit, die inhibitorische Wirkung von Antithrombin (AT) auf die an der Blutgerinnung beteiligten Proteasen zu beschleunigen (bis zu 2000fach).

Die biologische Aktivität dieses sulfatierten Glucosaminoglykans beruht auf seiner Fähigkeit, die inhibitorische Wirkung von Antithrombin (AT) auf die an der Blutgerinnung beteiligten Proteasen zu beschleunigen (bis zu 2000fach).

Die biologische Aktivität dieses sulfatierten Glucosaminoglykans beruht auf seiner Fähigkeit, die inhibitorische Wirkung von Antithrombin (AT) auf die an der Blutgerinnung beteiligten Proteasen zu beschleunigen (bis zu 2000fach).

Die biologische Aktivität dieses sulfatierten Glucosaminoglykans beruht auf seiner Fähigkeit, die inhibitorische Wirkung von Antithrombin (AT) auf die an der Blutgerinnung beteiligten Proteasen zu beschleunigen (bis zu 2000fach).

Die biologische Aktivität dieses sulfatierten Glucosaminoglykans beruht auf seiner Fähigkeit, die inhibitorische Wirkung von Antithrombin (AT) auf die an der Blutgerinnung beteiligten Proteasen zu beschleunigen (bis zu 2000fach).

Die biologische Aktivität dieses sulfatierten Glucosaminoglykans beruht auf seiner Fähigkeit, die inhibitorische Wirkung von Antithrombin (AT) auf die an der Blutgerinnung beteiligten Proteasen zu beschleunigen (bis zu 2000fach).

Die biologische Aktivität dieses sulfatierten Glucosaminoglykans beruht auf seiner Fähigkeit, die inhibitorische Wirkung von Antithrombin (AT) auf die an der Blutgerinnung beteiligten Proteasen zu beschleunigen (bis zu 2000fach).

Die biologische Aktivität dieses sulfatierten Glucosaminoglykans beruht auf seiner Fähigkeit, die inhibitorische Wirkung von Antithrombin (AT) auf die an der Blutgerinnung beteiligten Proteasen zu beschleunigen (bis zu 2000fach).

Die biologische Aktivität dieses sulfatierten Glucosaminoglykans beruht auf seiner Fähigkeit, die inhibitorische Wirkung von Antithrombin (AT) auf die an der Blutgerinnung beteiligten Proteasen zu beschleunigen (bis zu 2000fach).

Die biologische Aktivität dieses sulfatierten Glucosaminoglykans beruht auf seiner Fähigkeit, die inhibitorische Wirkung von Antithrombin (AT) auf die an der Blutgerinnung beteiligten Proteasen zu beschleunigen (bis zu 2000fach).

Die biologische Aktivität dieses sulfatierten Glucosaminoglykans beruht auf seiner Fähigkeit, die inhibitorische Wirkung von Antithrombin (AT) auf die an der Blutgerinnung beteiligten Proteasen zu beschleunigen (bis zu 2000fach).

Die biologische Aktivität dieses sulfatierten Glucosaminoglykans beruht auf seiner Fähigkeit, die inhibitorische Wirkung von Antithrombin (AT) auf die an der Blutgerinnung beteiligten Proteasen zu beschleunigen (bis zu 2000fach).

Die biologische Aktivität dieses sulfatierten Glucosaminoglykans beruht auf seiner Fähigkeit, die inhibitorische Wirkung von Antithrombin (AT) auf die an der Blutgerinnung beteiligten Proteasen zu beschleunigen (bis zu 2000fach).

Die biologische Aktivität dieses sulfatierten Glucosaminoglykans beruht auf seiner Fähigkeit, die inhibitorische Wirkung von Antithrombin (AT) auf die an der Blutgerinnung beteiligten Proteasen zu beschleunigen (bis zu 2000fach).

Die biologische Aktivität dieses sulfatierten Glucosaminoglykans beruht auf seiner Fähigkeit, die inhibitorische Wirkung von Antithrombin (AT) auf die an der Blutgerinnung beteiligten Proteasen zu beschleunigen (bis zu 2000fach).

Die biologische Aktivität dieses sulfatierten Glucosaminoglykans beruht auf seiner Fähigkeit, die inhibitorische Wirkung von Antithrombin (AT) auf die an der Blutgerinnung beteiligten Proteasen zu beschleunigen (bis zu 2000fach).

Die biologische Aktivität dieses sulfatierten Glucosaminoglykans beruht auf seiner Fähigkeit, die inhibitorische Wirkung von Antithrombin (AT) auf die an der Blutgerinnung beteiligten Proteasen zu beschleunigen (bis zu 2000fach).

Die biologische Aktivität dieses sulfatierten Glucosaminoglykans beruht auf seiner Fähigkeit, die inhibitorische Wirkung von Antithrombin (AT) auf die an der Blutgerinnung beteiligten Proteasen zu beschleunigen (bis zu 2000fach).

Die biologische Aktivität dieses sulfatierten Glucosaminoglykans beruht auf seiner Fähigkeit, die inhibitorische Wirkung von Antithrombin (AT) auf die an der Blutgerinnung beteiligten Proteasen zu beschleunigen (bis zu 2000fach).

Die biologische Aktivität dieses sulfatierten Glucosaminoglykans beruht auf seiner Fähigkeit, die inhibitorische Wirkung von Antithrombin (AT) auf die an der Blutgerinnung beteiligten Proteasen zu beschleunigen (bis zu 2000fach).

Die biologische Aktivität dieses sulfatierten Glucosaminoglykans beruht auf seiner Fähigkeit, die inhibitorische Wirkung von Antithrombin (AT) auf die an der Blutgerinnung beteiligten Proteasen zu beschleunigen (bis zu 2000fach).

Die biologische Aktivität dieses sulfatierten Glucosaminoglykans beruht auf seiner Fähigkeit, die inhibitorische Wirkung von Antithrombin (AT) auf die an der Blutgerinnung beteiligten Proteasen zu beschleunigen (bis zu 2000fach).

Die biologische Aktivität dieses sulfatierten Glucosaminoglykans beruht auf seiner Fähigkeit, die inhibitorische Wirkung von Antithrombin (AT) auf die an der Blutgerinnung beteiligten Proteasen zu beschleunigen (bis zu 2000fach).

Die biologische Aktivität dieses sulfatierten Glucosaminoglykans beruht auf seiner Fähigkeit, die inhibitorische Wirkung von Antithrombin (AT) auf die an der Blutgerinnung beteiligten Proteasen zu beschleunigen (bis zu 2000fach).

Die biologische Aktivität dieses sulfatierten Glucosaminoglykans beruht auf seiner Fähigkeit, die inhibitorische Wirkung von Antithrombin (AT) auf die an der Blutgerinnung beteiligten Proteasen zu beschleunigen (bis zu 2000fach).

Die biologische Aktivität dieses sulfatierten Glucosaminoglykans beruht auf seiner Fähigkeit, die inhibitorische Wirkung von Antithrombin (AT) auf die an der Blutgerinnung beteiligten Proteasen zu beschleunigen (bis zu 2000fach).

Die biologische Aktivität dieses sulfatierten Glucosaminoglykans beruht auf seiner Fähigkeit, die inhibitorische Wirkung von Antithrombin (AT) auf die an der Blutgerinnung beteiligten Proteasen zu beschleunigen (bis zu 2000fach).

Die biologische Aktivität dieses sulfatierten Glucosaminoglykans beruht auf seiner Fähigkeit, die inhibitorische Wirkung von Antithrombin (AT) auf die an der Blutgerinnung beteiligten Proteasen zu beschleunigen (bis zu 2000fach).

Die biologische Aktivität dieses sulfatierten Glucosaminoglykans beruht auf seiner Fähigkeit, die inhibitorische Wirkung von Antithrombin (AT) auf die an der Blutgerinnung beteiligten Proteasen zu beschleunigen (bis zu 2000fach).

Die biologische Aktivität dieses sulfatierten Glucosaminoglykans beruht auf seiner Fähigkeit, die inhibitorische Wirkung von Antithrombin (AT) auf die an der Blutgerinnung beteiligten Proteasen zu beschleunigen (bis zu 2000fach).

Die biologische Aktivität dieses sulfatierten Glucosaminoglykans beruht auf seiner Fähigkeit, die inhibitorische Wirkung von Antithrombin (AT) auf die an der Blutgerinnung beteiligten Proteasen zu beschleunigen (bis zu 2000fach).

Die biologische Aktivität dieses sulfatierten Glucosaminoglykans beruht auf seiner Fähigkeit, die inhibitorische Wirkung von Antithrombin (AT) auf die an der Blutgerinnung beteiligten Proteasen zu beschleunigen (bis zu 2000fach).

Die biologische Aktivität dieses sulfatierten Glucosaminoglykans beruht auf seiner Fähigkeit, die inhibitorische Wirkung von Antithrombin (AT) auf die an der Blutgerinnung beteiligten Proteasen zu beschleunigen (bis zu 2000fach).

Die biologische Aktivität dieses sulfatierten Glucosaminoglykans beruht auf seiner Fähigkeit, die inhibitorische Wirkung von Antithrombin (AT) auf die an der Blutgerinnung beteiligten Proteasen zu beschleunigen (bis zu 2000fach).

Die biologische Aktivität dieses sulfatierten Glucosaminoglykans beruht auf seiner Fähigkeit, die inhibitorische Wirkung von Antithrombin (AT) auf die an der Blutgerinnung beteiligten Proteasen zu beschleunigen (bis zu 2000fach).

Die biologische Aktivität dieses sulfatierten Glucosaminoglykans beruht auf seiner Fähigkeit, die inhibitorische Wirkung von Antithrombin (AT) auf die an der Blutgerinnung beteiligten Proteasen zu beschleunigen (bis zu 2000fach).

Die biologische Aktivität dieses sulfatierten Glucosaminoglykans beruht auf seiner Fähigkeit, die inhibitorische Wirkung von Antithrombin (AT) auf die an der Blutgerinnung beteiligten Proteasen zu beschleunigen (bis zu 2000fach).

Die biologische Aktivität dieses sulfatierten Glucosaminoglykans beruht auf seiner Fähigkeit, die inhibitorische Wirkung von Antithrombin (AT) auf die an der Blutgerinnung beteiligten Proteasen zu beschleunigen (bis zu 2000fach).

Die biologische Aktivität dieses sulfatierten Glucosaminoglykans beruht auf seiner Fähigkeit, die inhibitorische Wirkung von Antithrombin (AT) auf die an der Blutgerinnung beteiligten Proteasen zu beschleunigen (bis zu 2000fach).

Die biologische Aktivität dieses sulfatierten Glucosaminoglykans beruht auf seiner Fähigkeit, die inhibitorische Wirkung von Antithrombin (AT) auf die an der Blutgerinnung beteiligten Proteasen zu beschleunigen (bis zu 2000fach).

Die biologische Aktivität dieses sulfatierten Glucosaminoglykans beruht auf seiner Fähigkeit, die inhibitorische Wirkung von Antithrombin (AT) auf die an der Blutgerinnung beteiligten Proteasen zu beschleunigen (bis zu 2000fach).

Die biologische Aktivität dieses sulfatierten Glucosaminoglykans beruht auf seiner Fähigkeit, die inhibitorische Wirkung von Antithrombin (AT) auf die an der Blutgerinnung beteiligten Proteasen zu beschleunigen (bis zu 2000fach).

Die biologische Aktivität dieses sulfatierten Glucosaminoglykans beruht auf seiner Fähigkeit, die inhibitorische Wirkung von Antithrombin (AT) auf die an der Blutgerinnung beteiligten Proteasen zu beschleunigen (bis zu 2000fach).

Die biologische Aktivität dieses sulfatierten Glucosaminoglykans beruht auf seiner Fähigkeit, die inhibitorische Wirkung von Antithrombin (AT) auf die an der Blutgerinnung beteiligten Proteasen zu beschleun

CHROMOGENIX

Caratteristiche de rendimento

Limitaciones/ Sustancias que interfieren

Los resultados de la heparina no se ven afectados por la hemoglobina, hasta 200 mg/dl, los triglicéridos hasta 600 mg/dl y la bilirrubina hasta 12 mg/dl. La presencia de sulfato de dextrano reduce la influencia de los antagonistas de la heparina, por ejemplo el factor 4 de plaquetas (PF4).⁴

Precision:

Método de microplaca. Los datos indicados abajo se obtuvieron mediante el método de microplacas utilizando heparina no fraccionada (UHf) y heparina de bajo peso molecular (LMHW).

Concentración media	Dentro del análisis C.V. (%)	De un análisis a otro C.V. (%)	Total C.V. (%)
0,7 IU/mL UFH	2,8	1,2	2,8
0,4 IU/mL UFH	3,4	1,5	3,7
0,7 IU/mL LMWH	3,6	2,8	4,4
0,4 IU/mL LMWH	2,4	2,3	3,2

La precisión según el instrumento, obtenida por o para Chromogenix, se incluye en las fichas de aplicación a título de mero ejemplo. Cada laboratorio debe elaborar sus propios datos de precisión.

COAMATIC® Heparin - 82 3393 63

Utilisation prevue

Dosage de l'héparine non fractionnée (Héparine NF) ou de l'héparine de bas poids moléculaire (Héparine BPM) dans le plasma humain citraté à l'aide de méthodes automatisées et de la technique sur la microplaque.

Contexte et resume

L'héparine est l'antithrombotique le plus souvent utilisé. L'activité biologique de ce glycosaminoglycane sulfaté réside dans son aptitude à accélérer (jusqu'à 2000 fois) l'effet inhibiteur de l'antithrombine (AT) sur le processus de coagulation.

La détermination de la quantité d'héparine de bas poids moléculaire (BPM) ou non fractionnée (NF) se fait à partir de l'activité anti-FXa exprimée par le complexe [AT + Héparine] formé dans le plasma.¹⁻³

Principe de mesure

Héparine + AT → [AT + Héparine]

[AT + Héparine] + FXa (exés) → [FXa + AT + Héparine] + FXa (résiduel)

FXa (résiduel) + S-2732 → Péptide + pNA

Du facteur Xa (FXa) est ajouté à un mélange de plasma non dilué avecle substrat chromogène S-2732.

Lorsque l'héparine et l'AT sont complexées, il se produit en même temps deux réactions concurrentes :

- Inhibition du FXa par le complexe [AT + Héparine].
- Réaction du FXa avec le S-2732 aboutissant à un clivage du pNA.

La libération de pNA mesurée à 405 nm est inversement proportionnelle au taux d'héparine du mélange. De façon à réduire l'influence des antagonistes de l'héparine tels que le facteur plaquettaire 4 (FP4), on inclut du sulfate de dextrane dans le mélange réactionnel.⁴

Reactifs

- S-2732, 15 mg** 2 flacons Substrat chromogène, Suc-Ile-Glu(γ-pip)-Gly-Arg-pNA • HCl lyophilisé avec un détergent et du mannitol comme agent gonflant.

- Factor Xa, 35 nkat** 2 flacons FXa bovin lyophilisé contenant du tampon Tris, de l'EDTA, du NaCl, du sulfate de dextrane et de la sérum-albumine bovine.

ATTENTION :

Factor Xa

Danger

Classe de danger : Resp Sens. 1, H334, Eye Irrit. 2, H319. Skin Irrit. 2, H315

Indications de danger : H334 : Peut provoquer des symptômes allergiques ou d'asthme ou des difficultés respiratoires par inhalation. H315 : Provoque une irritation cutanée. H319 : Provoque une sévère irritation des yeux.

Conseils de prudence : P261 : Éviter de respirer les poussières/fumées. P280 : Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage. P304 + P340 : EN CAS D'INHALATION : transporter la personne à l'extérieur et la maintenir dans une position où elle peut confortablement respirer. P342 + P311 : En cas de symptômes respiratoires : Appeler un CENTRE ANTIPOISON/un médecin. P305 + P351 + P338 : EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer. P337 + P313 : Si l'irritation oculaire persiste : consulter un médecin. P302 + P352 : EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU : laver abondamment à l'eau. P333 + P313 : En cas d'irritation ou d'éruption cutanée : consulter un médecin.

Informations additionnelles sur les dangers : Contient Factor Xa. Jusqu'à 6% de ce mélange est constitué de composants dont la toxicité aiguë (par voie orale, cutanée, par inhalation) pour la santé humaine et l'écotoxicité pour le milieu aquatique sont inconnues.

S-2765

Classe de danger : Aucun

Indications de danger : Aucun

Conseils de prudence : Aucun

Informations additionnelles sur les dangers : ≈ 2% de ce mélange est constitué de composants dont la toxicité aiguë (cutanée, par inhalation) pour la santé humaine et l'écotoxicité pour le milieu aquatique sont inconnues. Ce produit est à usage diagnostique *in vitro*.

Préparation des réactifs :

Pour la technique sur microplaque, reconstituer les REACTIFS 1, et 2, à l'aide de 5,0 mL d'eau (voir REACTIFS 3). Remettre les bouchons en place et agiter doucement par rotation. S'assurer que la reconstitution du produit est complète. Maintenir les réactifs à 15-25°C pendant 10 à 30 mn et retourner avant mise en oeuvre. REMARQUE : Il se peut que d'autres volumes de reconstitution des réactifs s'appliquent dans le cas des méthodes automatisées (voir chapitre : APPLICATIONS SUR INSTRUMENTS). Les réactifs ne sont pas interchangeables entre lots.

Réactifs nécessaires mais non fournis :

- Eau désionisée, filtrée sur filtre de 0,22 µm
- Acide acétique à 20% ou acide citrique à 2% (méthode du point final)
- Sérum physiologique (0,9% NaCl)
- Plasma normal humain
- Plasma étalon pour HBPM ou HNF (étalonée par rapport au 1^{er} étalon International établi par le WMO avec une méthode anti Xa)
- Plasma de contrôle pour HBPM ou HNF.

REMARQUE : Le réactif antithrombine et le tampon Tris sont nécessaires à la méthode adaptée sur la série des ACL. Cette méthode est une technique en 2 temps, comprenant l'addition d'antithrombine, se référer à la notice d'explication spécifique.

COAMATIC® Heparin - 82 3393 63

Uso

Per il dosaggio di eparina non frazionata (UHf) o di eparina a basso peso molecolare (LMWH) nel plasma umano citratato usando metodi automatici e microplastra.

Introduzione

L'eparina è l'antitrombotico più usato. L'attività biologica di questo glicosaminoglicano solfato sta nella sua capacità di accelerare (fino a 2000 volte) l'effetto inibitorio dell'antitrombina (AT) sulle proteasi di coagulazione. La quantità di eparina a basso peso molecolare (LMW) o di eparina non frazionata (UF) è determinata dall'attività anti-FXa espressa dal complesso [AT + Eparina] formatosi nel plasma.^{1,3}

Principio del metodo

Eparina + AT → [AT + Eparina]

[AT + Eparina] + FXa (eccesso) → [FXa + AT + Eparina] + FXa (residuo)

FXa (residuo) + S-2732 → Peptide + pNA

Il fattore Xa (FXa) viene aggiunto ad una miscela di plasma non diluito con il substrato cromogenico S-2732.

Quando Eparina e AT sono complessati, si verificano simultaneamente due reazioni opposte :

- Inibizione del FXa da parte del complesso [AT + Eparina].
- Reazione del FXa con S-2732, che determina la liberazione della pNA. La pNA rilasciata viene misurata A 405 nm ed è inversamente proporzionale alla quantità di eparina presente nel campione.¹ Per ridurre l'influenza degli antagonisti dell'eparina, come il fattore piastrinico 4 (PF4), nella miscela di reazione viene aggiunto desrano solfato.⁴

Reagenti

- S-2732, 15 mg** 2iale Substrato cromogenico, Suc-Ile-Glu(γ-pip)-Gly-Arg-pNA • HCl liofilizzato con detergente e mannitolo quale ecipiente.

- Factor Xa, 35 nkat** 2 flaconi FXa bovino liofilizzato contenente tri(drossimetil)amminometano, EDTA, NaCl, desrano solfato e albumina bovina.

Avvertenze:

Factor Xa

Pericolo

Classe di pericolo : Resp Sens. 1, H334, Eye Irrit. 2, H319. Skin Irrit. 2, H315

Indicazioni di pericolo : H334 : Può provocare sintomi allergici o asmatici o difficoltà respiratorie se inalato. H315 : Provoa irritazione cutanea. H319 : Provoqa grave irritazione oculare.

Consigli di prudenza : P261 : Evitare di respirare la polvere/ i fumi. P280: Indossare guanti/indumenti protettivi/ Proteggere gli occhi/il viso. P304 + P340: IN CASO DI INALAZIONE: trasportare l'infortunato all'aria aperta e mantenerlo a riposo in posizione che favorisca la respirazione. P342 + P311: In caso di sintomi respiratori: contattare un CENTRO ANTIVELENI/un medico. P305 + P351 + P338: IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: lavare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciocquare. P337 + P313: Se l'irritazione degli occhi persiste, consultare un medico. P302 + P352: IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE: lavare abbondantemente con acqua. P333 + P313: In caso di irritazione o eruzione della pelle: consultare un medico.

Informazioni supplementari sui pericoli: Contiene Factor Xa. Fino al 6% di questa miscela è costituita da ingredienti la cui tossicità acuta (per via orale, dermale, inalatoria) per la salute umana e la tossicità per l'ambiente acquatico non è nota.

S-2765

Classe di pericolo: nessuno

Indicazioni di pericolo: nessuno

Consigli di prudenza: nessuno

Informazioni supplementari sui pericoli: ≈ 2% di questa miscela è costituita da ingredienti la cui tossicità acuta (dermale, inalatoria) per la salute umana e la tossicità per l'ambiente acquatico non è nota.

Per l'impiego diagnostico *in vitro*.

Preparazione dei reagenti: Per la tecnica a microplastra, ricostituire REAGENTI 1 e 2, con 5,0 mL di acqua (vedi REAGENTI 3). Rimettere il tappo e agitare delicatamente. Assicurarsi della completa ricostituzione del prodotto. Tenere il reagente a 15-25°C per 10-30 minuti e miscelare prima dell'uso.

NOTA: I metodi automatici possono richiedere altri volumi di ricostituzione dei reagenti. (Vedi paragrafo: APPLICAZIONI STRUMENTALI).

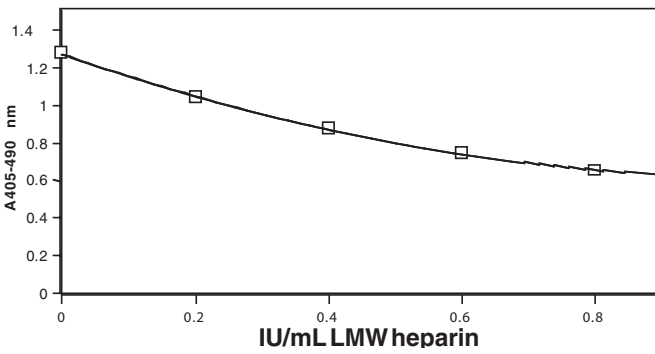
I reagenti non sono intercambiabili tra i vari lotti.

Reagenti necessari ma non inclusi nel kit:






- Acqua deionizzata filtrata a 0,22 µm o acqua NCCLS tipo II[®]
- Acido acetico al 20% o acido citrico al 2% (metodo end-point)
- Soluzione fisiologica (0,9% NaCl)
- Plasma umano normale
- Calibrator plasma per LMW Eparina e/o UF Eparina calibrata contro standards internazionali
- Controlli per LMW e/o attività UF Eparina

NOTA: Nel caso della serie ACL 100/1000, il dosaggio viene effettuato con metodo a due fasi, e il procedimento prevede l'aggiunta di reagente antitrombina. Per informazioni più specifiche vedi il foglio esplicativo.

Standard Curve / Standardkurve / Curva estándar / Courbe standard / Curva standard



Symbols used / Verwendete Symbole / Símbolos utilizados / Symboles utilisés / Simboli impiegati

IVD	LOT				CONTROL			EC REP
In Vitro Diagnostic Medical Device	Batch code	Use by	Temperature limitation	Consult instructions for use	Control	Biological risks	Manufacturer	Authorized representative
In Vitro Diagnostikum	Chargenbezeichnung	Verwendbar bis	Zulässiger Temperaturbereich	Gebrauchsanweisung beachten	Kontrollen	Biologisches Risiko	Hersteller	Bevollmächtigter
Dispositif médical de diagnosticue in vitro	Código de lote	Fecha de caducidad	Limite de temperatura	Consulte las instrucciones de uso	Contrôle	Riesgo biológico	Fabricante	Representante autorizado
Producto sanitario para diagnóstico in vitro	Code du lot	Utiliser jusque	Limites de température	Consultar les instructions d'utilisation	Controllo	Rischio biologico	Fabricant	Mandatario
Dispositivo medicodiagnostico in vitro	Codice del lotto	Utilizzare entro	Limite di temperatura	Consultare le istruzioni per l'uso			Fabricante	Rappresentanza autorizzata

CHROMOGENIX

Instrumentation Laboratory Company - Bedford, MA 01730-2443 (USA)

Instrumentation Laboratory SpA - V.le Monza 338 - 20128 Milano (Italy)

Tel. +1 800 678 0710

Correlacion

- El ensayo COAMATIC® Heparin presenta una buena correlación con los resultados obtenidos con los ensayos COATEST® Heparin y COATEST® LMW Heparin/Heparin obtenidos con el instrumento Cobas Mira:

COAMATIC® Heparin versus COATEST® Heparin	(n = 112)	
IU/mL Heparina = +0,005 + 1,00 x Heparina,	r = 0,97	
COAMATIC® Heparin versus COATEST® LMW Heparin/Heparin	(n = 90)	
IU/mL Heparina = +0,002 + 1,04 x Heparina,	r = 0,96	

- El ensayo COAMATIC® Heparin (ensayado en diversos instrumentos) versus IL Test™ Heparin obtenido en el instrumento ACL 300

Microplaca	(n = 70)	IU/mL Heparina = +0,017 + 1,00x Heparina,	r = 0,97
Instrumento			
Cobas Mira	(n = 87)	IU/mL Heparina = -0,012 + 1,04x Heparina,	r = 0,98
ACL 300†	(n = 62)	IU/mL Heparina = +0,004 + 1,03x Heparina,	r = 0,98
Futura	(n = 113)	IU/mL Heparina = +0,009 + 0,97x Heparina,	r = 0,97
MLA Electra 1600	(n = 80)	IU/mL Heparina = +0,004 + 1,01x Heparina,	r = 0,97
Thrombolyzer*	(n= 76)	IU/mL Heparina = +0,008 + 0,92x Heparina	r = 0,97

Matériel nécessaire mais non fourni :

- Spectrophotomètre à 405 nm (et 490 nm pour la procédure sur microplaque)
- Incubateur à 37°C
- Microplaques†
- Centrifugeuse à 2000 x g
- Tubes à essai en plastique
- Chronomètre
- Mélangeur à tourbillons
- Pipettes jaugées
- Papier millimétré

*REMARQUE : Ne pas utiliser de microplaques pour le coating.

Conditions de conservation et stabilité

Les réactifs avant l'ouverture sont stables à 2-8°C jusqu'à la date de péremption qui figure sur l'étiquette.

- S-2732** : Stabilité après reconstitution : 3 mois à +2-8°C dans l'ampoule d'origine.

- Factor Xa** : Stabilité après reconstitution : 3 mois à +2-8°C dans l'ampoule d'origine.

MISE EN GARDE : Ne pas utiliser les réactifs au-delà de la date de péremption figurant sur l'étiquette. Substrat-Eviter l'exposition à la lumière. Jeter la solution de substrat si elle présente une coloration jaune. Eviter la contamination par des microorganismes dans les réactifs.

Recueil des échantillons

Neuf volumes de sang veineux fraîchement prélevé sont recueillis dans un volume de citrate trisodique. Centrifugation: 2000 x g pendant 20 minutes à 20-25°C. Pour des instructions complémentaires au sujet du recueil, de la manipulation et de la conservation des échantillons, se reporter au document H21-A2 NCCLS.⁵

Controlo de qualite

Le recours à deux contrôles de concentration différente en héparine, étalonée par rapport au 1er étalon International établi par le WMO avec une méthode anti Xa, est recommandé pour le contrôle de la qualité.⁷ Il appartient à chaque laboratoire d'établir sa propre moyenne et son propre écart type, ainsi que de mettre sur pied un programme de contrôle de la qualité des tests de laboratoire. Les témoins doivent être analysés au minimum lors de chaque relais d'équipe toutes les 8 heures, conformément aux BPL. On se reportera à Westgard et coll. pour l'identification et la résolution des cas situés en dehors des normes.⁸

Resultats

Les résultats de l'héparine sont indiqués en activité (IU/ml).

Valeurs attendues

Afin d'obtenir un effet optimal avec un minimum de risques d'hémorragie ou de complications thrombo-emboliques, l'héparine doit se situer dans la fourchette recommandée par le fabricant.⁹

Procédure

Toutes les conditions contenues dans la brochure annexée à la confection se rapportent à la Méthode en microplaque et Cobas Mira. Des adaptations détaillées, pour de nombreux automates avec les consignes de préparation des, sont disponibles chez CHROMOGENIX et leurs distributeurs sur simple demande.

Méthode en microplaque : Dilution des échantillons et des témoins

Echantillons/témoins/standards	100 µL
Eau (voir REACTIFS 3)	300 µL
Bien mélanger.	
Echantillons/témoins/standards dilués	50 µL
Incuber à 37°C pendant 2 à 6 minutes.	
S-2732 (préchauffer à 37°C)	50 µL
Mélanger et ajouter dans les 2 minutes.	
Facteur Xa (préchauffer à 37°C)	50 µL
Mélanger et incuber à 37°C pendant 120 secondes.	
Acide acétique à 20% ou acide citrique à 2%	50 µL
Lire l'absorbance par comparaison avec de l'eau stérile à 405 nm. Si possible, lire et soustraire l'absorbance à 490 nm en vue de compenser les interférences dues à la microplaque.	

Étalonnage

Pour la préparation des standards, utiliser une source d'héparine NF ou BPM étalonée par référence à un Standard International.

Par exemple : Préparation des standards pour 10 séries.

i. Diluer l'héparine avec du sérum physiologique (0,9% NaCl) de manière à obtenir 100 IU/mL.

ii. Ajouter 180 µL de la dilution à 20,0 mL de plasma normal provenant d'un pool de sujets et mélanger soigneusement afin d'obtenir un plasma contenant 0,8 IU/mL.

Les dilutions standard sont réalisées selon le tableau ci-dessous :

Standard IU/mL	Plasma à 0,8 IU/mL Héparine mL	Plasma normal mL
0	-	4,0
0,2	1,0	3,0
0,4	2,0	2,0
0,6	3,0	1,0
0,8	4,0	-

Ces standards peuvent être conservés 12 mois à -20°C.

BCS*	(n = 30)	IU/mL Heparina = +0,008 + 0,93x Heparina,	r = 0,99
STA*	(n = 29)	IU/mL Heparina = +0,017 + 0,96x Heparina,	r = 0,99
Sysmex 6000	(n = 30)	IU/mL Heparina = +0,061 + 0,91x Heparina,	r = 0,99
AMAX	(n = 30)	IU/mL Heparina = +0,028 + 0,97x Heparina,	r = 0,99
AMGA*	(n = 30)	IU/mL Heparina = -0,061 + 1,02x Heparina,	r = 0,99
Hitachi 911	(n = 30)	IU/mL Heparina = +0,014 + 0,98x Heparina,	r = 0,99
Hitachi 917	(n = 30)	IU/mL Heparina = +0,021 + 1,00x Heparina,	r = 0,98

*NOTA: Instrumento que no está disponible en todos los países

†NOTA: En el caso de la serie ACL ClienMI, este ensayo se efectúa en dos fases añadiendo el reactivo antitrombótico como parte del proceso. La ficha de aplicaciones contiene informaciones más específicas.

Rango de medida recomendado

La relación entre la concentración de la heparina y la liberación de pNA, medida como absorbancia a 405 nm, es una función polinómica de segundo orden en el rango de 0-1,5 IU/mL.

Límite de medición:

Sistema

Cobas Mira mAbs / min per 1IU/mL Heparin 333 mAbs

Determinaciones/kit

Microplaca: 200

FRANCAIS - Révision de la notice 05/2016

Calcul

Méthode de la microplaque:

Printed Insert Sheet: 302002
Revision: R5
Issued: 05/2016
C.O.: 466766

LANGUAGES

ENGLISH
DEUTSCH
ESPAÑOL
FRANÇAIS
ITALIANO

TECHNICAL SPECS

PAPER: White paper, 50-60 g/m² weight.
SIZE: 11 x 17" (280 x 432 mm.).
PRINT: Front/Back.
PRINT COLOR: Top rule Orange Pantone 137, all remaining type in black. Red PMS 179 or equivalent where used.
Back - All type in black. Red PMS 179 or equivalent where used.