



PLASMA HIRUDIN STANDARD HIGH # SC020L

For in vitro diagnostic use only

HYPHEN BioMed

ZAC Neuville Université – 155, rue d'Eragry
95000 Neuville-sur-Oise – France
Tél. : 01 34 40 85 10 – Fax : 01 34 48 72 36
www.hyphen-biomed.com



Last revision : 24/09/2009

ENGLISH

INTENDED USE:

Lyophilised plasmas, at **0 and 5 µg/mL** hirudin (lepirudin) concentration, for establishing the calibration curve for the clotting assay of hirudin in human plasmas (Hemoclot Thrombin Inhibitors, #CK002K/L).

SUMMARY AND EXPLANATION:

Hirudin can be used as an anticoagulant for curative indications, mainly in emergency situations. When required, measuring the Hirudin concentration in patients' plasma allows monitoring the therapy and adjusting drug dosage. These standards are used for the calibration of clotting assays proposed for measuring Hirudin concentrations in plasma (especially CK002K/L).

REAGENTS SUPPLIED:

Each kit contains:

- **Standard 0: Std 0:** 3 vials of 1 ml of normal plasma, lyophilised, without hirudin (0 µg/mL).
- **Standard 5: Std 5:** 3 vials of 1 ml of normal plasma, lyophilised, containing "C" (about 5 µg/mL) of hirudin.

The exact concentration of Hirudin can vary from lot to lot, but is exactly indicated for each lot on the flyer provided in the kit.

Note:

- Plasma standards contain an antibiotic as preservative, and excipients (Glycine, stabilizers).
- Each donor unit used for the preparation of plasma standards 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 of Standard 0 or Standard 5:

- 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 15 min, while shaking the vial from time to time.
- Homogenise the content before each use.

Stability after reconstitution, in the original vial:

- 24 hours at room temperature (18-25°C)
- 48 hours at 2-8°C

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.

PROTOCOL FOR THE CALIBRATION CURVE:

The Hemoclot Thrombin Inhibitors assay uses a 20 fold (**1:20**) plasma dilution for the high range determination. Using the plasmas at **0 µg/mL** and "**C**" (about **5 µg/mL**, indicated for each lot on the flyer provided with the kit) hirudin concentration, prepare the following calibration curve (manual method), using physiological saline (0.15M Sodium Chloride) or Owren Koller type buffer as diluent. The calibration standards, already diluted 20 fold (**1:20**) are obtained as follows:

Plasma Hirudin concentration (µg/mL)	0	C:4 (about 1.25)	C:2 (about 2.50)	3C:4 (about 3.75)	C (about 5.00)
Plasma 0 µg/mL (µL)	100	75	50	25	0
Plasma Std5 at "C" µg/mL (µL)	0	25	50	75	100
Physiological Saline or Owren Koller Buffer (µL)	1900	1900	1900	1900	1900

Diluted calibrators are stable for at least 2 hours at room temperature (18-25°C).

CALIBRATION RANGE:

The calibration curve covers the range up to about 5.0 µg/ml.

The concentrations have been determined with the **HEMOCLOT Thrombin Inhibitors kit**. The exact concentrations may present variations from lot to lot, but are exactly indicated for each lot on the flyer provided within the kit.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS:

Plasma Hirudin Standard High allow establishing the calibration curve for the measurement of Hirudin in plasma, especially with Anti-IIa method using the **HEMOCLOT Thrombin Inhibitors (ref. CK002K/L)** kit (**high range protocol**, up to about 5 µg/ml).

The **Hirudin Control Plasma (ref SC025K)** can be used in order to obtain an homogeneous quality control system.

Plasma hirudin calibrators are standardised according to hirudin concentration. The hirudin protein activity can present variations from lot to lot, according to its specific activity (usually in the range 14,000 to 16,000 ATU*/mg)

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.

CAUTIONS:

- Like all lyophilised plasmas, the plasmas standards 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.

*ATU: Anti-Thrombin Unit



PLASMA HIRUDIN STANDARD HIGH Ref SC020L

HYPHEN BioMed

Pour diagnostic in vitro exclusivement

Dernière révision : 24/09/2009

FRANCAIS

UTILISATION :

Plasmas lyophilisés contenant de l'hirudine (lépirudine) (**5 µg/ml**) ou sans Hirudine (**0 µg/ml**) utilisés pour réaliser la courbe de calibration du dosage de l'hirudine dans le plasma humain (coffret Hemoclot Thrombin Inhibitors, Réf. CK002K/L).

COMPOSITION :

Chaque coffret comprend :

- **Standard 0 : Std 0** : 3 flacons de 1ml de plasma normal lyophilisé, sans hirudine (**0 µg/ml**).
- **Standard 5 : Std 5** : 3 flacons de 1ml de plasma normal, lyophilisé, contenant « **C** » (environ **5 µg/ml**) d'hirudine.

Le taux exact d'Hirudine peut varier de lot à lot, mais est indiqué pour chaque lot sur le papillon fourni dans le coffret.

Nota:

- Chaque poche de plasma humain, utilisée dans la préparation du coffret Plasma Hirudin Standard, 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 comme conservateur, et des excipients (glycine, stabilisants).

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 du Standard 0 ou Standard 2:

- Reconstituer chaque flacon 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 15 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 :

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

Précautions :

- Pour assurer une bonne stabilité des réactifs, refermer les flacons après usage, avec leurs bouchons respectifs.
- 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.

PROTOCOLE OPERATOIRE POUR LA COURBE DE CALIBRATION:

Dans le test Hemoclot Thrombin Inhibitors, les plasmas à tester (méthode manuelle) sont dilués au **1/20** pour les fortes concentrations d'hirudine. Etablir la courbe de calibration en utilisant les plasmas lyophilisés à **0 µg/ml** et « **C** » (environ **5 µg/ml**, **indiqué pour chaque lot sur le papillon fourni dans le coffret**) d'hirudine. Les dilutions sont effectuées en sérum physiologique (0.15M de NaCl) ou en tampon Owren Koller.

Concentration d'Hirudine dans le plasma (µg/ml)	0	C/4 (environ 1,25)	C/2 (environ 2,50)	3C/4 (environ 3,75)	C (environ 5,00)
Plasma 0 µg/ml (µl)	100	75	50	25	0
Plasma Std5 à "C" µg/ml (µl)	0	25	50	75	100
Sérum physiologique ou Tampon Owren Koller (µl)	1900	1900	1900	1900	1900

Les points d'étalonnage sont ainsi dilués au **1/20** et stables pendant au moins 2 heures à température ambiante.

CALIBRATION:

Ces plasmas standards permettent d'obtenir une courbe de calibration allant jusqu'à environ 5.0 µg/ml d'hirudine.

Ces taux sont déterminés avec le kit HEMOCLOT Thrombin Inhibitors.

Le taux d'Hirudine des plasmas standards peut varier légèrement d'un lot à l'autre, mais est indiqué précisément pour chaque lot sur le papillon fourni dans le coffret.

PERFORMANCES :

Les plasmas de calibration du coffret Plasma Hirudin Standard High permettent de réaliser une courbe d'étalonnage pour la mesure des taux d'Hirudine dans le plasma par méthode anti-IIa lorsque le kit **HEMOCLOT Thrombin Inhibitors** (ref. **CK002K/L**) est utilisé selon le **protocole gamme haute**, jusqu'à environ 5 µg/ml.

Les plasmas **Hirudin Control Plasma (réf. SC025K)** peuvent être utilisés comme système homogène de contrôle de qualité.

Les plasmas standards pour hirudine sont calibrés en fonction de la concentration de l'hirudine. L'activité de l'hirudine peut varier en fonction des lots, selon son activité spécifique (habituellement comprise entre 14 000 et 16 000 UAT*/mg).

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.

LIMITES :

- Comme tout plasma lyophilisé, les plasmas de calibration du coffret 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.

*UAT: Unité d'Anti-Thrombine