

PLASMA HIRUDIN STANDARD HIGH

SC020L

For *in vitro* use only

For research use only

Pour utilisation *in vitro* exclusive

Uniquement à usage de recherche

HYPHEN BioMed

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



Last revision/ dernière révision : 12/01/2006

Intended use

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

Reagents:

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 **5 µg/mL** of hirudin.

Reagent Preparation and stability:

In their original package, and before any use, when stored at 2-8°C, the reagents are stable until the expiration date printed on the kit.

Excipients:

Glycine, stabilizers.

Preparation:

- **Std 0: 0 µg/mL** plasma:
 - restore the vial with 1mL distilled water
 - let for 15 min at room temperature
 - mix gently until complete dissolution of the content.
- **Std 5: 5 µg/mL** plasma:
 - restore the vial with 1mL distilled water
 - let for 15 min at room temperature
 - mix gently until complete dissolution of the content.

These plasmas are stable for:

- 24 hours at room temperature (18-25 °C)
- 48 hours at 2-8 °C
- 2 months, frozen in their original vial, or in a plastic tube (before use, thaw in a water bath at 37 °C, for at least 15 min).

Nota: Plasmas used for hirudin standards (0 and 5 µg/mL) were tested with registered methods and found negative for HIV antibodies, HBs Ag and HVC antibodies. However, no assay may warrant the total absence of infectious agents. Any product of human origin must then be handled with all the required cautions, as being potentially infectious.

Protocol for the calibration curve:

The Hemoclot hirudin assay uses a 20 fold (**1:20**) plasma dilution for the high range determination. Using the plasmas at **0 µg/mL** and **5 µg/mL** hirudin concentration, prepare the following calibration curve, using physiological saline (8,5 g/l 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	1.25	2.50	3.75	5
Plasma 0 µg/mL (µL)	100	75	50	25	0
Plasma 5 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 6 hours at room temperature.

Complementary information

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)

*ATU: Anti-Thrombin Unit / *UAT: Unité d'Anti-Thrombine

D.750.08/SC/020L

Utilisation :

Plasmas lyophilisés contenant de l'hirudine (**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 Hirudin, Réf. CK002K).

Réactifs :

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 5 µg/ml d'hirudine.

Stabilité des réactifs :

Dans leur flacon d'origine, et avant utilisation, les réactifs sont stables jusqu'à la date d'expiration indiquée sur l'étiquette du coffret, lorsque celui-ci est conservé à 2-8°C.

Excipients :

Glycine, stabilisants.

Préparation :

- **Std 0 : Plasma à 0 µg/ml :**
 - reconstituer le flacon avec 1 ml d'eau distillée
 - laisser stabiliser 15 mn à température ambiante
 - mélanger délicatement jusqu'à dissolution totale du réactif.
- **Std 5 : Plasma à 5 µg/ml :**
 - reconstituer le flacon avec 1 ml d'eau distillée
 - laisser stabiliser 15 mn à température ambiante
 - mélanger délicatement jusqu'à dissolution totale du réactif.

Ces plasmas ainsi reconstitués sont stables :

- 24 heures à température ambiante (18-25 °C)
- 48 heures à 2-8 °C
- 2 mois, conservés congelés dans leur flacon d'origine ou dans un tube plastique (avant utilisation, les décongeler pendant 15mn dans un bain-marie à 37 °C).

Nota : Les plasmas utilisés ont été testés par des méthodes enregistrées et sont certifiés exempts pour l'anticorps VIH, le Hbs Ag et l'anticorps VCH. Toutefois, aucune méthode ne permettant d'exclure totalement le risque d'agent pathogène, ces produits doivent être manipulés avec toutes les précautions requises pour l'utilisation de produits potentiellement infectés.

Protocole opératoire pour la courbe de calibration:

Dans le test Hemoclot Hirudin, les plasmas à tester 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 **5 µg/ml** d'hirudine. Les dilutions sont effectuées en sérum physiologique (8,5g/l de NaCl) ou en tampon Owren Koller.

Concentration d'Hirudine dans le plasma (µg/ml)	0	1.25	2.50	3.75	5
Plasma 0 µg/ml (µl)	100	75	50	25	0
Plasma 5 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 sont stables pendant 6 heures à température ambiante.

Information complémentaire :

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*/m