

**Adaptation of BIOPHEN Factor XIa on STAR**

**I. Reconstitution of the BIOPHEN Factor XIa reagents.**

Chromogenic determination of Factor XIa with Biophen Factor XIa.

**BIOPHEN Factor XIa (Ref A220412) reagents:**

	NAME	Reconstitution	Stability*	Stabilization in T°
R1A	F.X-VIIIc	3 ml of distilled water	24 hours at 2-8°C *** 8 hours at room T°	** 30 mn before any use
R1B	F.IX	3 ml of distilled water	24 hours at 2-8°C *** 8 hours at room T°	** 30 mn before any use
R2	Activator	3 ml of distilled water	24 hours at 2-8°C *** 8 hours at room T°	** 30 mn before any use
R3	SXa-11	3 ml of distilled water	1 months at 2-8°C *** 7 days at room T°	** 30 mn before any use
R4	Buffer TRIS-BSA	Ready to use	Stable until the expiration date at 2-8°C	** 30 mn before any use
Cal	Calibrator FXIa	2 ml of distilled water	24 hours at 2-8°C *** 8 hours at room T°	** 30 mn before any use

**\*The stability data claimed on the insert were obtained on reconstituted vials, kept closed, protected from and provided any contamination or evaporation is avoided. Stability must be controlled, and can be adjusted and validated if required, according to the exact use conditions for each laboratory.**

**Reconstitution:**

(\*) After reconstitution with distilled water, let the reagent to stabilize 30 minutes at room temperature.

**Stabilization of reagents:**

(\*\*) It is necessary to let the reagent temperature to stabilize for at least 30 minutes on the automate before any use.

**Conservation of reagents:**

Take care of putting up the specific caps back on the bottles before storing them at 2°-8° C and of strictly respecting the temperature stabilization time of 30 minutes before using the reagents on the automate.

**Foot-note: Do not interchange the reagents from different lots.**

**NOTE:** Use microcups when running the assay, to improve management of the reagents volumes by the automate.

## **II. Preparation of the calibration curve and controls/samples**

### **Calibration curve:**

Calibration is performed with the FXIa calibrator provided in the kit, with a known factor XIa concentration “C” (expressed in ng/ml).

The calibrator is loaded “undiluted”, and the calibration curve is directly realised by the automate.

**Controls:** The control is performed with internally or commercially available controls, titrated for Factor XIa.

### **Tested samples and controls:**

In these conditions, the tested samples and controls are loaded “undiluted”.

**Nota:** For lyophilized calibrators and controls, following reconstitution with distilled water, let the reagent to stabilize 30 minutes at room temperature. It is recommended to run the calibration curve with a freshly reconstituted calibrator. It is necessary to let the reagent temperature to stabilize for at least 30 minutes onto the automate before any use. Take care avoiding any contamination or evaporation of the reagents. Stability can be adjusted according to the exact use conditions.

**Homogenize before each use.**

**Do not freeze calibrators and quality control plasmas.**

**Quality controls must be run regularly, and for each new batch of reagents, after an important maintenance of the instrument, or if measured values are not in compliance with the one expected for the method.**

## **III. Results:**

- The calibration curve (working range) is of the Lin (absorbance) – Lin (concentration) type.
- The values obtained for the samples and controls are directly calculated from the calibration curve.
- The results are expressed as ng/ml factor XIa activity.

**The calibration curve is validated when linearity ( $r^2$ ), as well as measured control values, are in compliance.**

**A new calibration curve must be carried out for each new batch of reagents, after each important maintenance of the instrument, or when measured values for controls are out of the acceptance range for the method (after checking all other parameters for the system).**

**Note: Performances may present slight variations according to the instrument used. Validate the expected values in the laboratory working conditions. Performances, as well as values for each new lot of quality controls used, must then be confirmed (and adjusted if necessary) in the laboratory working conditions.**

#### IV. Programming the STAR analyser :

Click on the icon **set up software** for the **manager program** and create the program according to :

This calibration allows measuring concentrations in the range 0 -5ng/ml of Factor X1a

CONFIGURATION – Page 1 / 3

Identification									
Abbreviation		Name		Method			Date		
B F.X1a		BIOPHEN F.X1a		Two points Chromo					
Sample				Diluent					
Volume	Incu	Dil.	Id.	Name		Vial.	stab	Min.Vol.	
80µl	0 sec	1/1	R4 X1a	R4 X1a		25 ml	8 h	2 ml	
reagents									
Id.	Name	Incu sec	Vol. µl	Vial ml	Stab h	Min.Vol. ml	Washing		
							before	after	
Ra R1A X1a	R1A X1a	0*	80	3	8	0.2	no	Normal	
Rb R1B X1a	R1B X1a	120*	80	3	8	0.2	no	Intensive	
Rc R2 X1a	R2 X1a	120*	80	3	8	0.2	no	Special	
Rd R3 X1a	R3 X1a		80	3	8	0.2	no	Intensive	
Analysis		Result			Validation (ng/ml)				
Rd Heating	yes	Primary Units		ng/ml	Standard	min	max		
Stirring	yes	Corrector		1.00		0	10		
First point	20	Single/Duplicate		single					
Last point	200	Precision		5%					
		Redil. Condition							
*Precision : NO		<							
		>							

Enter data concerning washing.

Washing				
	Ra	Rb	Rc	Rd
Front	No	No	No	No
After	Normal	Intensive	Special	Intensive
Wash			12227	
Name			STA-DESORB U	
Stab. H			120	
Vial ml			15	
Vol in. ml			0.9	

Show the second page and write calibration data.

**CONFIGURATION – Page 2 / 3**

Calibration						
Mode graph – linear regression					Scale	
Calibrators				Vial* ml	Stab.* H	Min.Vol.* ml
Id.	Key	Name	Dil.			
XIaCAL		XIaCAL	1/1	2	24	0.2
XIaCAL		XIaCAL	1/2	2	24	0.2
XIaCAL		XIaCAL	1/4	2	24	0.2
XIaCAL		XIaCAL	1/8	2	24	0.2
XIaCAL		XIaCAL	1/16	2	24	0.2
<b>Control</b>						
	Id.	Key	Name	Vial. ml	Stab. H	Min.Vol. ml
<b>Level 1</b>						
<b>Level 2</b>						

(\*) To be filled by the user . Homogenize before each use

Show the last page and enter data concerning the quality control.

The STAR can manage 3 levels of quality control. For example: the following configuration is possible.

**CONFIGURATION – Page 3 / 3**

Printout / Transmission							
Units	Factor convers.	Print	Transmission Test number	Usual Values	ng/ml		
Main	ng/ml	Yes	0	STANDARD	Min. Max.		
Aux.1	DDO	Yes	0				
Aux.2				0	10		
Aux.3							
Printout limits		min	0				
		max	10				
<b>Controls</b>							
	Id.	Key	Name	Period H	Vial. ml	Stab. H	Min.Vol. ml
<b>Level 1</b>	(*)	(*)	(*)	(*)	(*)	(*)	(*)
<b>Level 2</b>	(*)	(*)	(*)	(*)	(*)	(*)	(*)
<b>Level 3</b>	(*)	(*)	(*)	(*)	(*)	(*)	(*)

(\*) To be filled by the user . Homogenize before each use

**Détermination chromogénique  
de l'activité du F.XIa**

**I. RECONSTITUTION DU REACTIF, BIOPHEN FXIa (Réf : A220412)**

	Nom	Reconstitution	Stabilité	Stabilisation en T°
R1A	<b>F.X-VIIIc</b>	3 ml d'eau distillée (*)	24 heures à 2°-8°C** 8 heures à T° ambiante	30 minutes avant toute utilisation (***)
R1B	<b>F IX (h)</b>	3 ml d'eau distillée (*)	24 heures à 2°-8°C** 8 heures à T° ambiante	30 minutes avant toute utilisation (***)
R2	<b>Activateur</b>	3 ml d'eau distillée (*)	24 heures à 2°-8°C (**) 8 heures à T° ambiante	30 minutes avant toute utilisation (***)
R3	<b>SXa-11</b>	3 ml d'eau distillée	1 mois à 2°-8°C (**) 7 jours à T° ambiante	30 minutes avant toute utilisation (***)
R4	<b>Tampon Tris-BSA</b>	Prêt à l'emploi	Date de péremption à 2°- 8°C (**)	30 minutes avant toute utilisation (***)
Cal	<b>FXIa Calibrateur</b>	2 ml d'eau distillée (*)	24 heures à 2°-8°C (**) 8 heures à T° ambiante	30 minutes avant toute utilisation (***)

**\* Reconstitution :** (\*) Après reconstitution en eau distillée, respecter un temps de stabilisation des réactifs de 30 minutes à température ambiante (18-25° C).

**\* Conservation des réactifs :** - \*\*\*Les durées de stabilité indiquées sont sous réserve de toute évaporation ou contamination. Elles peuvent être ajustées en fonction des conditions de travail exactes du laboratoire.

En cas de déchargement tous les soirs des réactifs hors de l'automate, veiller à bien reboucher les flacons, avec leurs bouchons respectifs, avant de les stocker à 2° - 8° C, et à bien respecter le temps de stabilisation en température de 30 minutes quand vous les remettrez sur l'automate.

Si les réactifs sont gardés sur l'automate, prendre soin d'utiliser des cheminées afin de limiter au maximum le risque d'évaporation des réactifs.

**\* Stabilisation en température des réactifs :** (\*\*) Il est impératif de laisser la température se stabiliser au moins 30 minutes au sein de l'automate avant toute utilisation.

**\* Bien homogénéiser les réactifs avant chaque utilisation.**

**\*Ces réactifs doivent être manipulés avec toutes les précautions requises pour l'utilisation de produits d'origine biologique, potentiellement infectés.**

**\* Ne pas inter changer les flacons de réactifs provenant de lots différents.**

**\*Lors de la réalisation du test, travailler si nécessaire en microcups pour une bonne gestion des volumes de réactifs par l'automate.**

## II. PREPARATION DE LA GAMME D'ETALONNAGE ET DES CONTROLES

### Gamme d'étalonnage :

La gamme d'étalonnage est réalisée à partir du calibrateur FXIa fourni dans le coffret, de concentration (C) (**en ng/ml**) en Facteur XIa précisément définie.

Le calibrateur est chargé « pur » et la gamme de calibration est directement réalisée par l'automate.

### Contrôles

Utiliser des contrôles internes ou disponibles sur le marché et dont le taux en Facteur XIa est précisément défini.

**Nota** : Dans le cas d'utilisation de calibrateur et contrôles lyophilisés, respecter un temps de stabilisation de 30 minutes à température ambiante. Il est préférable de reconstituer les plasmas de calibration le jour de la calibration. Veiller à bien respecter le temps de stabilisation des calibrateurs ainsi que celui des contrôles : 30 minutes à l'intérieur de l'automate et particulièrement s'ils ont été conservés à +2° -8°C. Homogénéiser avant chaque utilisation.

**Ne pas congeler les calibrateurs FXIa, ni les contrôles qualité.**

**Une nouvelle courbe d'étalonnage doit être effectuée à chaque changement de lot du réactif, après toute maintenance importante de l'analyseur, et lorsque les résultats des Contrôles de Qualité ne sont pas dans les valeurs annoncées pour la méthode.**

**Chaque laboratoire peut établir son propre domaine d'acceptation, en fonction des protocoles et des instruments utilisés.**

**Il est conseillé de passer au moins un contrôle de qualité à divers niveau chaque fois qu'une série de dosages est effectuée.**

**Dans ces conditions, les échantillons à tester et contrôles sont chargés « purs » et testés directement par l'automate dans le test.**

## III. RESULTATS

- La courbe d'étalonnage est du type Lin (absorbance) – Lin (concentration).
- Si la dilution des échantillons à tester est la dilution standard, la concentration en Facteur XIa de l'échantillon à doser est déduite directement de la courbe d'étalonnage. Les résultats sont exprimés en ng/ml de FXIa.

**La gamme d'étalonnage est valide lorsque la linéarité est conforme, et que les contrôles de qualité sont mesurés conformes, dans l'intervalle de confiance défini pour le lot.**

**Une nouvelle gamme de calibration doit être effectuée à chaque changement de lot de réactif, après chaque maintenance importante de l'analyseur, ou lorsque les contrôles de qualité ne sont pas mesurés dans l'intervalle de confiance défini, après vérification des paramètres du test.**

**Nota** : Les performances du test peuvent varier légèrement selon l'instrument utilisé. Vérifier les zones attendues pour les lots de réactifs et l'instrument utilisé dans les conditions de travail du laboratoire. Ces performances, ainsi que les valeurs attendues, pour chaque nouveau lot de contrôle de qualité utilisé, doivent, par conséquent, être confirmées (et ajustées si nécessaire), dans les conditions de travail exactes du laboratoire.

#### IV. PROGRAMMATION DE L'ANALYSEUR

Cliquer sur l'icône configuration des tests, (**Echap/configuration/tests**). Afin de créer un nouveau test, sélectionner un emplacement libre et entrer la configuration suivante pour le dosage du FXIa. Cette gamme explore les valeurs comprises entre environ 0 et 5ng/ml d'activité

#### CONFIGURATION – Page 1 / 3

Identification									
Abbréviation		Nom		Méthode			Date		
B F.XIa		BIOPHEN F.XIa		Colo - 2points					
Echantillon				Diluant					
Volume	Incu	Dil.	Id.	Nom		flacon.	stab	Min.Vol.	
80µl	0 sec	1/1	R4 XIa	R4 XIa		25 ml	8 h	2 ml	
réactifs									
Id.	Nom	Incu sec	Vol. µl	flacon ml	Stab h	Min.Vol. ml	Lavages		
							avant	après	
Ra R1A XIa	R1A XIa	0*	80	3	8	0.2	non	Normal	
Rb R1B XIa	R1B XIa	120*	80	3	8	0.2	non	Intensif	
Rc R2 XIa	R2 XIa	120*	80	3	8	0.2	non	Spécial	
Rd R3 XIa	R3 XIa		80	3	8	0.2	non	Intensif	
Analyse		Résultats			Validation (ng/ml)				
Rd chauffage	oui	Unité principale		ng/ml	Standard	min	max		
Agitation	oui	Facteur correction		1.00		0	10		
Premier point	20	Simple/Double		simple					
Dernier point	200	Précision		5%					
		Condition redilution							
*Précision : NON		<							
		>							

Cliquer sur l'icône **Suite** afin de rentrer les données concernant les lavages.

Lavages				
	Ra	Rb	Rc	Rd
Avant	Non	Non	Non	Non
Après	Normal	Intensif	Spécial	Intensif
Wash			12227	
Name			STA-DESORB U	
Stab. H			120	
Vial ml			15	
Vol in. ml			0.9	

Cliquer sur l'onglet Calibration et rentrer les données suivantes :

**CONFIGURATION – Page 2 / 3**

Calibration										
Mode graph – régression linéaire						Echelle				
Calibrateur				flacon* ml	Stab.* H	Vol.min* ml	Donnée brute Concentration Simple/Double	Lin Lin Simple		
Id.	clé	Nom	Dil.							
XlaCAL		XlaCAL	1/1	2	24	0.2				
XlaCAL		XlaCAL	1/2	2	24	0.2				
XlaCAL		XlaCAL	1/4	2	24	0.2				
XlaCAL		XlaCAL	1/8	2	24	0.2				
XlaCAL		XlaCAL	1/16	2	24	0.2				
Contrôle										
	Id.	Clé	Nom	flacon ml	Stab. H	Vol.min ml				
<b>Niveau 1</b>										
<b>Niveau 2</b>										

**(\*)A renseigner par l'utilisateur. Homogénéiser avant chaque utilisation**

Cliquer sur l'onglet **Edition/Transmission** et rentrer les données suivantes

Cliquer sur l'onglet **Contrôle qualité (\*)**.

Le STA-R offre la possibilité de gérer 3 niveaux différents de contrôles de qualité.

**CONFIGURATION – Page 3 / 3**

Edition / Transmission							
Unités	Facteur convers.	Edition	Rang transmission	Valeurs usuelles		ng/ml	
Principale	ng/ml	oui	0	STANDARD	Min.	Max.	
Aux.1	DDO	oui	0				0
Aux.2							
Aux.3							
Limite d'édition		min	0				
		max	10				
Contrôles							
	Id.	Clé	Nom	Période H	flacon ml	Stab. H	Vol.min ml
<b>Niveau 1</b>	(*)	(*)	(*)	(*)	(*)	(*)	(*)
<b>Niveau 2</b>	(*)	(*)	(*)	(*)	(*)	(*)	(*)
<b>Niveau 3</b>	(*)	(*)	(*)	(*)	(*)	(*)	(*)

**(\*)A renseigner par l'utilisateur suivant les contrôles utilisés. Homogénéiser avant chaque utilisation**