

NOTE : reconstitution, preparation, calibration and controls, expression of results: usual cautions and realization according to the specific technical insert (D.750.02/BI/1003 or /1006) and the specific calibrators and controls used for the assayed molecule.

Reagents are reconstituted by 3.75 ml (#A221003) or 7.5 ml (#A221006) distilled water, well equilibrated, and preheated at 37°C

PHASE	CONDITION	OPERATION	PARAMETERS
1 st loading step	YES	Reagent loading (pos 18)	0µl
		Washing after reagent loading (pos 18)	0
		Diluent (pos DIL) Physiological serum	20µL
		Specimen	20µl
		Reagent (nacelle 2) Substrate	100µL
		Washing between specimen	3
		Optical ref. (cycle abs.) Diluent (pos DIL) Reagent (nacelle 2)	80µL 80µL
		Washing (at the end of loading)	3
		Incubation time (T1)	120 s
2 nd loading step	YES	Diluent (pos DIL)	0µL
		Specimen	0µL
		Washing between specimen	0
		Reagent (nacelle 3) FXa	100µL
		Washing after reagent loading	3
		Mix time (T2)	120 s
		Activation time (T3)	0 s
3 rd loading step	NO	Reagent (pos 17)	0µL
		Washing after reagent loading	0
		Mix time (T4)	0 s
		Activation time (T5)	0 s
Washing	NO	Reagent (pos 1)	0µL
		Reagent (pos 16)	0µL
		Cycles number	1
		Washing at the end of loading	1
Levels detection	NO		
Acquisition parameters	YES	Ramp	yes
		Inter-ramp interval (T6)	1s
		Delay before acquisition (T7)	5s
		Acquisition time (T8)	65s (*)
		Canal used	405nm
Rotation speed	1200 rpm		

(*) The acquisition time is of 60 seconds.

Note: Biophen Heparin reagents are developed for measuring homogeneously Unfractionated heparin (UFH) and Low Molecular Weight Heparin (LMWH), using the same calibration curve. The superimposition conditions are susceptible to slightly vary according to the combination of reagents and lots used, and the technical characteristics and specific adjustment of each apparatus.

Therefore, this superimposition has to be verified and validated in the exact laboratory working conditions and for each machine, by establishing the calibration curve using Biophen Heparin calibrators (LMWH, ref A222001), and by assaying the homogeneous system of associated Biophen UFH calibrators (ref A222301), UFH control plasmas (ref A223101), and LMWH control plasmas at high and low levels (ref A223001, A223701).

The linearity (r^2) is expected to be ≥ 0.98 for the calibration curve.

Controls must be measured in compliance.

Measured values for calibrators are acceptable when:

Measured value = target value ± 0.10 IU/ml for levels ≤ 0.50 IU/ml (better ± 0.05 IU/ml)

Measured value = target value ± 0.15 IU/ml for levels > 0.5 IU/ml (better 90-110% of the target value, or ± 0.10 IU/ml for levels between 0.5 and 1.0 IU/ml)

Should the superimposition not be obtained, a separate calibration curve must be used for each type of heparin, and validated by assaying the homogeneous quality control system (controls measured in compliance and close to the assigned target value).

Example of calibration curve obtained:

	Acquisition 60 sec
IU/ml LMWH	A405
0	0.78
0.46	0.56
0.93	0.40
1.46	0.30
1.90	0.23
r^2 (logA405-lin conc)	>0.99

Nota: The 3 months stability at 2-8°C and the 7 days stability at room temperature (18-25°C) claimed are validated on reconstituted vials kept closed, protected from any evaporation or contamination.

For your information, stability data on STAR board tested in our laboratory working conditions are:

-7 days for reconstituted vials loaded on STAR during working time, using mini reducers or chimneys then closed and stored at 2-8 °C overnight.

-5 days for reconstituted vials left loaded continuously on STAR.

Stabilities of reagents on each automate must be controlled, adjusted and validated under each exact laboratory working conditions.

NOTE : reconstitution, préparation, calibration et contrôle, expression des résultats : précautions d'usage, et à réaliser selon les indications de la notice technique correspondante (D.750.01/BI/1003 ou /BI/1006) et selon les calibrateurs et contrôles spécifiques pour la molécule dosée.

Réactifs repris par 3.75 ml (#A221003) ou 7.5 ml (#A221006) d'eau distillée, équilibrés et préchauffés à 37°C

PHASE	CONDITION	OPERATION	PARAMETRES
1ere étape de chargement	OUI	Chargement réactif (pos 18)	0µl
		Cycle nettoyage après réactif (pos 18)	0
		Diluant (pos DIL) Serum physiologique	20µL
		Specimen	20µl
		Réactif (nacelle 2) Substrat	100µL
		Nettoyage entre échantillons	3
		Ref Optique (cycle abs.) Diluant (pos DIL) Réactif (nacelle 2)	80µL 80µL
		Nettoyage (fin de chargement)	3
		Temps d'Incubation (T1)	120 s
		2eme étape de chargement	OUI
Specimen	0µL		
Nettoyage entre specimens	0		
Réactif (nacelle 3) FXa	100µL		
Nettoyage (fin de chargement)	3		
Temps de mélange (T2)	120 s		
Temps d'Activation (T3)	0 s		
3eme étape de chargement	NON	Réactif (pos 17)	0µL
		Nettoyage (fin de chargement)	0
		Temps de mélange (T4)	0 s
		Temps d'activation (T5)	0 s
Nettoyage	NON	Réactif (pos 1)	0µL
		Réactif (pos 16)	0µL
		Nombre de Cycles	1
		Nettoyage (fin de chargement)	1
Détection de niveaux	NON		
Paramètres d'acquisition	OUI	Rampe	oui
		Intervalle Inter-rampe (T6)	1s
		Délai avant acquisition (T7)	5s
		Temps d'Acquisition (T8)	65s (*)
		Canal utilisé	405nm
		Vitesse de Rotation	1200 rpm

(*) pour une durée d'acquisition de 60sec.

Nota : Le coffret Biophen Heparin est optimisé pour déterminer de façon homogène les héparines non fractionnées (HNF) ou les héparines de bas poids moléculaire (HBPM), en utilisant une courbe de calibration unique.

Les conditions de superposition sont susceptibles de varier légèrement en fonction de la combinaison des réactifs et lots utilisés, ainsi que des caractéristiques techniques et du réglage spécifique propre à chaque appareil.

Par conséquent, cette superposition doit être vérifiée et validée dans les conditions de travail exactes du laboratoire et pour chaque machine, en établissant la courbe de calibration à l'aide du Biophen Heparin calibrator (LMWH ou HBPM, ref A222001), et en testant le système associé des Biophen UFH calibrator (UFH ou HNF, ref A222301), UFH control plasma (ref A223101), et LMWH control plasma à niveau haut et bas (ref A223001, A223701).

La linéarité (r^2) attendue pour la courbe de calibration est ≥ 0.98 .

Les valeurs mesurées pour les contrôles doivent être conformes.

Les valeurs mesurées pour les calibrateurs sont acceptables lorsque :

Valeur mesurée = valeur cible ± 0.10 UI/ml pour des taux ≤ 0.50 UI/ml (et mieux ± 0.05 UI/ml)

Valeur mesurée = valeur cible ± 0.15 UI/ml pour des taux > 0.5 UI/ml (et mieux 90-110% de la valeur cible, ou ± 0.10 UI/ml pour des taux entre 0.5 et 1.0 UI/ml)

Si la superposition ne peut être obtenue, une courbe de calibration spécifique doit être utilisée pour chaque type d'héparine dosée, et validée par la mesure des contrôles de qualité homogènes (valeur conforme, et proche de la cible déterminée).

Exemple de calibration obtenue :

	Acquisition 60 sec
UI/ml LMWH	A405
0	0.78
0.46	0.56
0.93	0.40
1.46	0.30
1.90	0.23
r^2 (logA405-lin conc)	> 0.99

Nota: Les stabilités 3 mois à 2-8 °C et 7 jours à TA ont été obtenues sur des flacons reconstitués, conservés fermés, exempts de tout risque d'évaporation ou de contamination.

A titre d'information, nous vous fournissons les données de stabilité déterminées par notre laboratoire à bord de l'automate STA-R :

-1. Les flacons reconstitués laissés à bord de l'automate STA-R toute la journée avec des cheminées, puis fermés et stockés à 2-8 °C le soir, sont stables 7 jours ;

-2. Les flacons reconstitués laissés à bord de l'automate STA-R en continu sont stables 5 jours

Chaque laboratoire doit contrôler, ajuster et valider selon ses conditions exactes de travail, la stabilité à bord de chaque automate.