



### **Adaptation of BIOPHEN Protein C 2.5 ON BCS**

#### **1. Reconstitution of BIOPHEN Protein C 2.5 (Ref A221202) reagents.**

Chromogenic determination of Protein C.

	<b>NAME</b>	<b>Reconstitution</b>	<b>Stability</b>	<b>Stabilization in T°</b>
R1	Protac	2.5 ml of distilled water (*)	3 months at 2-8°C 3 days at room T° Do not freeze	30 mn before any use (**)
R2	SAPC-21 Substrate	2.5 ml of distilled water (*)	3 months at 2-8°C 3 days at room T° Do not freeze	30 mn before any use (**)

#### Reconstitution:

(\*) Following reconstitution with distilled water, let the R1 and R2 reagents to stabilize for 30 minutes at room temperature.

#### 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.

#### Stabilization of reagents:

(\*\*) It is necessary to let the substrate (R2) and the Protac (R1) temperature to stabilize for at least 30 minutes on the automate before any use.

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

## 2. Determination of Protein C.

NAME	Reconstitution	Stability	Stabilization in T°
Calibration Biophen Plasma Calibrator (ref A222101)	1 ml of distilled water (*)	24 hours at 2-8°C 8 hours at room T°	30 minutes <i>on</i> STA <i>board</i> before any use (**)
Quality controls Biophen Normal Control (ref A223201) Biophen Abnormal Control (ref A223301)	1 ml of distilled water (*)	24 hours at 2-8°C 8 hours at room T°	30 minutes <i>on</i> STA <i>board</i> before any use (**)

### Reconstitution:

(\*) Following reconstitution of calibrators or controls with distilled water, let them to stabilize for 30 minutes at room temperature.

**Foot-note: A calibration curve must be carried out for each new batch of reagents.**

### Conservation of reagents:

(\*\*) Take care of strictly respecting the 30 minutes temperature stabilization time for *calibrators* and *controls* at room temperature, then the 30 minutes on the automate, particularly if they were stored at + 2°-8°C. Homogeneize before each use.

**Foot-note: Do not freeze calibrators or controls.**

## 3. Results.

- The calibration curve is of the Lin (absorbance) - Lin (concentration) type.
- The values obtained for the patients and controls are directly calculated from the calibration curve.
- The results are expressed in % activity.  
The 100% activity is that of reference normal pooled citrated plasma.

#### 4. Programming the BCS analyzer.

##### Creation of reagents and diluent files

Return to definition of test. Go to “reagents without data of lot”. Create both reagents files, and also the diluent file.

<b>Name:</b> PROTAC			
Abbreviation: PROTAC			
clean when the reagent is modified			high
<input checked="" type="checkbox"/> New calibration with any new lot of reagents			
<b>Authorized lines</b>			
from 1		to 14	
<b>Stability</b>			
< 15C unlimited		> = 15C	
<b>Mix by jet</b>			
Intensity		1	
Frequency		No agitation	
<b>Reference numbers</b>			
		Number	
		add	remove
		replace	

<b>Name:</b> SAPC21			
Abbreviation: SAPC21			
clean when the reagent is modified			special
<input checked="" type="checkbox"/> New calibration with any new lot of reagents			
<b>Authorized lines</b>			
from 1		to 14	
<b>Stability</b>			
< 15C unlimited		> = 15C	
<b>Mix by jet</b>			
Intensity		1	
Frequency		No agitation	
<b>Reference numbers</b>			
		Number	
		add	remove
		replace	

<b>Name:</b> Physiological saline			
Abbreviation: PHYSAL			
clean when the reagent is modified			Normal/low
New calibration with any new lot of reagents			
<b>Authorized lines</b>			
from 1		to 14	
<b>Stability (*)</b>			
< 15C		> = 15C	
<b>Mix by jet</b>			
Intensity		1	
Frequency		No agitation	
<b>Reference numbers</b>			
		Number	
		add	remove
		replace	

Create in the same way calibration plasmas and control plasmas files.

<b>Name:</b> Biophen plasma Calibrator			
Abbreviation: PCCAL			
clean when the reagent is modified			Normal/low
<input checked="" type="checkbox"/> New calibration with any new lot of reagents			
<b>Authorized lines</b>			
from 1		to 14	
<b>Stability (*)</b>			
< 15C		> = 15C	
<b>Mix by jet</b>			
Intensity		1	
Frequency		No agitation	
<b>Reference numbers</b>			
		Number	
		add	remove
		replace	

<b>Name:</b> Biophen plasma Control			
Abbreviation: PC Cont			
clean when the reagent is modified			Normal/low
<input checked="" type="checkbox"/> New calibration with any new lot of reagents			
<b>Authorized lines</b>			
from 1		to 14	
<b>Stability (*)</b>			
< 15C		> = 15C	
<b>Mix by jet</b>			
Intensity		1	
Frequency		No agitation	
<b>Reference numbers</b>			
		Number	
		add	remove
		replace	

(\*) To be filled by the user

**Creation of the procedure**

Once the various reagent files are created, the procedure file must be created. In order to do it, go to definition of tests, procedure and type the following parameters.

**General Information**

Former Change			
Test Procedure Number			
Test Procedure Name	BIOPHEN PC 2.5		
Measurement time stopped after	120 sec	Or	mA (0 = anything time of measure)
	0		
Speed	normal		
Stirring	normal		
Wavelength	405 nm		
Primary absorbance range	131-160 mA		
Duplicate n# for samples and controls (*)		CV Authorized (*)	0.0 %
Duplicate n# for calibration (*)		CV Authorized (*)	0.0 %
Duplicate n# of summary of raw data	Arithmetic mean		
Dilution Factor	1 : 4 (1 = no dilution)		
Dilution Buffer	Physiological saline		

**(\*) To be filled by the user**

Evaluate and Control Method			
Delta A per minute			
from	20	Sec	120
			Sec
Correlation Factor		0.9	Absolute
Curve Type	Decrease		

## Pipetting Sequence

Test Procedure Number

Test Procedure Name

BIOPHEN PC 2.5

### Sampling cycles

Number of Cycle	Arm of transmission	Final Washing	Action of Rotors/transfer	Printout limits [sec]	
				Min	Max
1	Arm	normal	No mix. in priority	0	0
2	Reagent Arm	normal	Incubation	280	310
3	Reagent Arm	normal	No mix/measure	0	0

Num de transm.	Mean/pipetting goal	Reagent	Speed	Volume (µl)
1	Take air		Slow	20
1	Take the sample		Slow	50
1	In the external cup		Slow	50
2	Take air		Slow	20
2	Take the Reagent	R1 PROTAC	Slow	100
2	In the central cup		Slow	100
3	Take air		Slow	20
3	Take the Reagent	R2 SAPC21	Slow	100
3	In the central cup		Slow	100
4	Take the Reagent	SCS Cleaner	Slow	0

### Test Definition

<b>General Information</b>				
Former Change		[ ]		
Name		BIOPHEN PC 2.5		Test N°
Result Unit		PC ID t		
Behring	% dN	Conversion factor		Abbreviation
User	% dN	1%dN	1.0	1%dN
PC	% dN	1 %dN	1.0	1%dN
Place in the list				PC2.5
Digit number for results				1000

### Test detailed procedures

Procedure Name test	Evaluation Method
BIOPHEN PC 2.5	Delta A fix

### Calculate Formula of raw data

Formula Type	Minimum	
User own Formula	[ ]	
Unit	mE/min	

### Detailed evaluation test

Usual Values		Determination of result		<b>Standard Concentrations</b>	
		70	% dN		at
		140	%dN		% dN
Test used for Calibration		[ ]			100
Evaluation		Regression lin/lin			50
Reference Curve		Calibration curve			25
					12.5
					6.25
Minimum raw value		0.0			
Upper Extrapolation		1.5			
Lower Extrapolation		0.01			
Calibrator		Standard plasma calibrator			
Authorized SD respectively to the reference curve		0		%	
Maximal number repeats		0			

### Détermination chromogénique de l'activité de la Protéine C



#### I. RECONSTITUTION DU REACTIF, BIOPHEN Protein C 2.5 (Réf : A221202)

	Nom	Reconstitution	Stabilité	Stabilisation en T°
R1	PROTAC	2.5 ml d'eau distillée (*)	3 mois à 2°-8°C 3 jours à T° ambiante ne pas congeler	30 minutes avant toute utilisation (**)
R2	SUBSTRAT SAPC21	2.5 ml d'eau distillée (*)	3 mois à 2°-8°C 3 jours à T° ambiante ne pas congeler	30 minutes avant toute utilisation (**)

#### Reconstitution

(\*) Après reconstitution en eau distillée, respecter un temps de stabilisation de 30 minutes à température ambiante

#### Conservation des réactifs

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

- Si le Substrat et le Protac sont gardés 24H/24H à bord de l'automate, veiller à utiliser les cheminées afin d'éviter tout risque d'évaporation.

#### Stabilisation en température du réactif

(\*\*) Il est impératif de laisser la température du substrat et du Protac se stabiliser au moins 30 minutes au sein de l'automate avant toute utilisation.

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

## II. DOSAGE DE LA PROTEINE C

Nom	Reconstitution	Stabilité	Stabilisation en T°
<b>CALIBRATION</b> <u>Biophen Plasma Calibrator</u> (ref A222101)	1 ml d'eau distillée*	24 heures à 2° -8° C 8 heures à T° ambiante	30 minutes à bord du BCS avant toute utilisation**
<b>CONTROLES DE QUALITE</b> <u>Biophen Normal Control</u> (ref A223201) <u>Biophen Abnormal Control</u> (ref A223301)	1 ml d'eau distillée*	24Heures à 2° -8° C 8 heures à T° ambiante	30 minutes à bord du BCS avant toute utilisation**

### Reconstitution

(\*) Après reconstitution en eau distillée des plasmas de calibration ainsi que des contrôles de qualité, 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.

### Stabilisation des réactifs

(\*\*) Veiller à bien respecter le temps de stabilisation des calibrants ainsi que celui des contrôles : 30 minutes à l'intérieur de l'automate et particulièrement s'ils ont été conservé à +2° -8° C. Homogénéiser avant chaque utilisation.

**Ne pas congeler les plasma de calibration, 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.**

## III. RESULTATS

- La courbe d'étalonnage est du type Lin (absorbance) - Lin (concentration).
- Les valeurs des patients et des contrôles sont directement calculées à partir de la courbe d'étalonnage et les résultats sont exprimés en % d'activité

#### IV. PROGRAMMATION DE L'ANALYSEUR

##### Création des réactifs et du diluant

Rentrer dans définition de test. Aller dans réactifs sans données de lot. Créer les 2 réactifs, ainsi que le diluant.

<b>Nom :</b> Protac			
Abréviation :		PROT	
Nettoyer lorsque le réactif est modifié		élevé	
<input checked="" type="checkbox"/> Recalibrer lors du changement de lot			
<b>Rangées autorisées</b>			
de		1	a 14
<b>Stabilité</b>			
< 15C		illimité	> = 15C
<b>Mélange par jet</b>			
Intensité		1	
Fréquence		Pas d'agitation	
<b>Numéros de référence</b>			
		Numéro	
		Ajouter	Supprimer
		Remplacer	

<b>Nom :</b> Substrat			
Abréviation :		SAPC21	
Nettoyer lorsque le réactif est modifié		spécial	
<input checked="" type="checkbox"/> Recalibrer lors du changement de lot			
<b>Rangées autorisées</b>			
de		1	a 14
<b>Stabilité</b>			
< 15C		illimité	> = 15C
<b>Mélange par jet</b>			
Intensité		1	
Fréquence		Pas d'agitation	
<b>Numéros de référence</b>			
		Numéro	
		Ajouter	Supprimer
		Remplacer	

<b>Nom :</b> Sérum Physiologique			
Abréviation :		SERUMPHY	
Nettoyer lorsque le réactif est modifié			
<input type="checkbox"/> Recalibrer lors du changement de lot			
<b>Rangées autorisées</b>			
de		1	a 14
<b>Stabilité</b>			
< 15C			> = 15C
<b>Mélange par jet</b>			
Intensité		1	
Fréquence		Pas d'agitation	
<b>Numéros de référence</b>			
		Numéro	
		Ajouter	Supprimer
		Remplacer	

##### Création des calibrateurs et contrôles

Créer de même les plasmas de calibration ainsi que les plasmas de contrôle.

<b>Nom :</b> BIOPHEN CALIBRATOR			
Abréviation :		BIOCAL	
Nettoyer lorsque le réactif est modifié		bas	
<input checked="" type="checkbox"/> Recalibrer lors du changement de lot			
<b>Rangées autorisées</b>			
de		1	a 14
<b>Stabilité</b>			
< 15C			> = 15C
<b>Mélange par jet</b>			
Intensité		1	
Fréquence		Pas d'agitation	
<b>Numéros de référence</b>			
		Numéro	
		Ajouter	Supprimer
		Remplacer	

<b>Nom :</b> BIOPHEN CONTROL			
Abréviation :		BIOCONT	
Nettoyer lorsque le réactif est modifié		bas	
<input checked="" type="checkbox"/> Recalibrer lors du changement de lot			
<b>Rangées autorisées</b>			
de		1	a 14
<b>Stabilité</b>			
< 15C			> = 15C
<b>Mélange par jet</b>			
Intensité		1	
Fréquence		Pas d'agitation	
<b>Numéros de référence</b>			
		Numéro	
		Ajouter	Supprimer
		Remplacer	

(\*) à renseigner par l'utilisateur

## Création de la procédure

Une fois les différents réactifs créés, il s'agit de créer la procédure. Pour cela, aller dans **définition de tests**, procédure et taper les paramètres suivants.

Informations générales			
Changement antérieur			
Numéro de la procédure de test			
Nom de la procédure de test	Protein C BIOPHEN		
Terminer la mesure après	120	secondes	ou
	0		
Vitesse	normal		
Mélange	Super Intensif		
Longueur d'onde	405 nm		
Plage d'absorbance primaire	131 – 160 mA		
Doublet n# pour échantillons et contrôles (*)	CV autorisé (*)	0.0	%
Doublet n# pour la calibration (*)	CV autorisé (*)	0.0	%
Doublet n# du sommaire de valeurs brutes	Moyenne arithmétique		
Facteur de dilution	1 :4		
Milieu de dilution	Sérum Physiologique.		

Méthodes d'évaluation et de contrôle			
DeltaA fixe			
De	20	Secondes	120
Coefficient de corrélation au moins			0.9
Forme de la courbe	Descendante		
			(absolu)

(\*) à renseigner par l'utilisateur

Cycles de prélèvement					
Numéro de cycle	Bras de transmission	Lavage final	Action de Rotors/transfert	Fenêtre de temps	
				min	max
1	Bras	normal	Non mél. En priorité	0	0
2	Bras de réactif	normal	Incubation	280	310
3	Bras de réactif	normal	Pas de mélange/mesure	0	0

Num de transm.	Moyen/destination De pipetage	Réactif	Vitesse	Volume (µl)
1	Charger de l'air		Lent	20
1	Charger l'échantillon		Lent	50
1	Dans la cuvette externe		Lent	50
2	Charger de l'air		Lent	20
2	Charger le réactif	PROTAC	Lent	100
2	Dans la cuvette centrale		Lent	100
3	Charger de l'air		Lent	20
3	Charger le réactif	SAPC21	Lent	100
3	Dans la cuvette interne		Lent	100
4	Charger le réactif	SCS Cleaner	Lent	0

Création du test

**Information générale**

Nom	Protein C BIOPHEN			N° du test	
				ID ordinat.	
Unité de résultats pour ...					
Behring	% dN	Facteur de conversion		Abréviation	Prot C BIO
l'utilisateur	% dN	1% dN	1.0	1% dN	Séquence dans listes
l'ord, central	% dN	1% dN	1.0	1% dN	Format de chiffres pour l'affichage des résult.
					1000

**Détails des procédures de test associées**

Procédures spécifiques de ce test

Nom de la procédure de test	Méthode employée pour la valeur brute
Proteine C BIOPHEN	Delta A Fixe

**Formule de calcul de la valeur brute**

Type de formule	Minimum
Formule propre à l'utilisateur	
Unité de la valeur brute	mE/min

**Détails de l'évaluation du test**

Mesure des résultats

Val. Normales de  % dN a  % dN

détails si évaluation par la courbe de calibration

Test utilisée pour la calibration		
Evaluation	Régression lin/lin	
Courbe maitresse	Mesurer la courbe	
valeur brute minimum	0.0	
extrapolation supérieure	1.5	x concentration maximum
extrapolation inférieure	0.01	x concentration minimum
calibreur	Standard Plasma (ou étalons Iyo.)	
écart autorisé/Rapp. Courbe mait.	0	%
nombre maximal des répétitions	0	

**concentration demandées**

% dN
100
50
25
12.5
6.25