

## 1. Reconstitution of Hemoclot Thrombin Inhibitors reagents.

- Refer to each specific insert.
- The reagents are equilibrated at RT and then gently mixed and equilibrated at 37°C on the BCS prior to testing.

- # ACK002K presentation :

	NAME	Reconstitution	Stability*	T° Stabilization
R1	Normal Pooled Plasma	1 ml of distilled water*	Refer to the insert*	** 30 mn on board before any use
R2	Human Calcium Thrombin	1 ml of distilled water*		

- # ACK002L presentation :

	NAME	Reconstitution	Stability*	T° Stabilization
R1	Normal Pooled Plasma	2.5 ml of distilled water*	Refer to the insert*	** 30 mn on board before any use
R2	Human Calcium Thrombin	2.5 ml of distilled water*		

**\*The stability data claimed on the insert were obtained on reconstituted vials, kept closed, protected from any contamination or evaporation. 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 for 30 minutes at room temperature (18-25°C).

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

**Storage 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.

If the reagents are kept on the automate board, take care and use reducers to limit as much as possible any evaporation of the reagents.

**Homogenize the reagents before each use.**

Any reagent of biological origin must be handled with all the required cautions, as being potentially infectious.

**Do not interchange the reagents from different lots.**

## 2. Reagents required but not provided:

- **DILUENT:** Owren Koller buffer (eg AAR003A/K) or Physiological Saline buffer (NaCl 9 g/L).

**The same diluent must be used for all the tests performed.**

- **CALIBRATION:** Internal Reference Calibrator titrated for the assayed Thrombin Inhibitor (DTI). Alternatively the following calibrators are available:

**For the assay of Hirudin:**

Plasma Hirudin Standard Low (Ref : ASC020K) using the low range calibration.

OR

Plasma Hirudin Standard High (Ref : ASC020L) using the high range calibration.

**For the assay of Argatroban®:**

Argatroban® Plasma Calibrator (Ref: ASC030K) using the low range calibration.

**For the assay of Dabigatran:**

Dabigatran Plasma Calibrator (Ref: A222801) using the low range calibration.

- **QUALITY CONTROL:** Internal Reference Quality Controls titrated for the assayed Thrombin Inhibitor (DTI). Alternatively the following controls are available:

**For the assay of Hirudin:** Plasma Hirudin Control (Ref : ASC025K)  
(C1 better for low range; C2 better for High range).

**For the assay of Argatroban®:** Argatroban® Control Plasma (Ref: ASC035K)

**For the assay of Dabigatran:** Dabigatran Control Plasma (Ref: A224701)

## 3. Calibrators and Controls:

**Cautions:** Refer to each specific insert for the **reconstitution** volume, the **stability** after reconstitution (indicated provided any contamination or evaporation is avoided. Stability can be adjusted according to the exact use conditions), and the **stabilization before use**.

**Refer to the exact concentrations indicated on the flyer for each lot.**

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. 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.

**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.**

**Performances may present slight variations according to the assayed DTI and the instrument used. Validate the expected values in the exact laboratory working conditions.**

**Check the validity of the series by including quality control plasmas at different levels in each one.**

**“LOW RANGE Concentration Curve”:**

- **Prepare the appropriate standard curve:**
  - **From about 0 to 2µg/ml Hirudin** (5 levels eg: 0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 or “C” µg/ml, obtained by mixing appropriate volumes of the two provided “low range” calibrators, #ASC020K, according to the following table:

Hirudin	µg/ml	0	C:4	C:2	3C:4	C
Plasma at “C” (about 2 µg/ml) in µl		0	75	150	225	300
Normal Plasma (about 0µg/ml) in µl		300	225	150	75	0

If required, volumes can be proportionally increased to ensure sufficient volume for a good management by the automate.

- **From about 0 to 2µg/ml Argatroban®** (5 levels of ready to use calibrators, #ASC030K)
- **From about 0.05 to 0.50 µg/ml Dabigatran** (3 levels of ready to use calibrators, #A222801)
- **Refer to the exact concentration indicated on the flyer for each lot.**
- **The standards then have to be assayed at the 1:8 dilution (which is directly managed by the automate).**

**“HIGH RANGE Concentration Curve” (for Hirudin):**

- **Prepare a high range standard curve from about 0 to 5 µg/ml Hirudin** (5 levels eg: 0, 1.25, 2.50, 3.75, 5.0 or “C” µg/ml, obtained by mixing appropriate volumes of the two provided “high range” calibrators, #ASC020L, according to the following table:

Hirudin	µg/ml	0	C:4	C:2	3C:4	C
Plasma at “C” (about 5 µg/ml) in µl		0	75	150	225	300
Normal Plasma (about 0µg/ml) in µl		300	225	150	75	0

If required, volumes can be proportionally increased to ensure sufficient volume for a good management by the automate.

- **Refer to the exact concentration indicated on the flyer for each lot.**
- **The standards then have to be assayed at the 1:20 dilution (which is directly managed by the automate).**

#### 4. Results:

- The calibration curve is of the Lin (Clot time, in seconds), on ordinates - Lin ( $\mu\text{g/ml}$  assayed DTI) type (on abscissae).
- The values obtained for patients and controls are directly calculated from the calibration curve (when the standard dilution is used for the test).
- The results are expressed as  $\mu\text{g/ml}$  of assayed DTI.

The calibration curve is validated when linearity ( $r^2 \geq 0.98$ ), as well as measured control values (at least one in each series, better two levels), are in compliance.

A new calibration curve must be carried out better with each test series, and at least 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).

Clotting times and performances may present variations according to the assayed DTI, the instrument used, and to the clot detection sensitivity adjustment. Validate the expected values in the exact laboratory working conditions. Performances, as well as expected ranges, and values for each new lot of quality controls used, must then be confirmed (and adjusted if necessary) for each specific application in the exact laboratory working conditions and for the specific application.

**NOTE: To avoid any confusion, take care to create and identify appropriate reagents and specific procedure for each assayed DTI and concentration range.**

## 5. Programming the analyzer:

### Creation of reagents files

Return to definition of test. Go into reagents without data of lot. Create the reagent files.

<b>Name:</b> HIRUDIN R1 <b>Abbreviation:</b> HIR 1 clean when the reagent is modified <b>High</b> <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> add    remove    replace	<b>Name:</b> HIRUDIN R2 <b>Abbreviation:</b> HIR 2 clean when the reagent is modified <b>Special</b> <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> add    remove    replace
--	---

### Creation of calibration files

Create a table for each point of the calibration curve (eg : set of calibrators) (for the high and low range); according to the examples here below:

<b>Name:</b> HIRUDIN Low1 <b>Abbreviation:</b> HIR Low 1 clean when the reagent is modified <b>Low</b> <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> add    remove    replace	<b>Name:</b> HIRUDIN High1 <b>Abbreviation:</b> HIR High 1 clean when the reagent is modified <b>Low</b> <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> add    remove    replace
---	---

(\*) To be filled by the user

### Creation of Control files

Create quality control plasmas for the DTI to be assayed (based on same parameters as calibrators), preferably at least 2 appropriate levels, within the assay range.

(For information, if Hirudin Control Plasmas (#ASC025K) are used, C1 is more representative for the low range, and C2 for the high range).

### Creation of the procedure

Once the various reagents, calibration and controls files are created, the procedure file must be created.

Go to the "Definition tests, procedure" and enter the following parameters.

### **NOTE:**

**According to the tested DTI, and concentration range used for the calibration, two procedures must be created:**

**Procedure for the LOW RANGE (0 to 2 µg/ml Hirudin or 0 to 2 µg/ml Argatroban® or 0.05 to 0.5µg/ml Dabigatran), specific for each assayed inhibitor**

**OR**

**Procedure for the HIGH RANGE (0-5 µg/ml Hirudin)**

**LOW RANGE :**

General Information			
Former Change			
Test Procedure Number			
Test Procedure Name	TI Low		
Terminate measurement after	150 sec	Or	mA (0 = any measurement time)
	0		
Speed	normal		
Mixing	normal		
Wave-Lenght	405 nm		
Primary absorbance range	201-240 mA		
Duplicate n# for samples and controls	*	CV Authorized	<input type="text"/> %
Duplicate n# for calibration	*	CV Authorized	<input type="text"/> %
Duplicate n# of raw data summary	Arithmetic mean		
Dilution Factor	1 : 8	(1 = no dilution)	
Dilution Buffer			

Evaluation and Control Methods			
<b>Fixed Absorption</b>			
Lag Phase	<input type="text" value="7"/>	Sec	Threshold <input type="text" value="300"/> mA
<b>Angle</b>			
Lag	<input type="text" value="7"/>	Sec	Threshold <input type="text" value="300"/> mA
Window size	<input type="text" value="3"/>	Sec	
Minimum angle	<input type="text" value="15"/>	angle	
<b>Decrease</b>			
Lag	<input type="text" value="7"/>	Sec	
Max Absorbance Decrease	<input type="text" value="10"/>	%	
<b>Sinusoide</b>			
Lag Phase	<input type="text" value="7"/>	Sec	Threshold <input type="text" value="300"/> mA
Minimum Amplitude	<input type="text" value="100"/>	mA	Threshold Factor <input type="text" value="2.0"/>
Number of Steps	<input type="text" value="10"/>		Limit <input type="text" value="20"/>
<b>A MaxMin</b>			
Lag Phase	<input type="text" value="7"/>	Seconds	
Minimum/maximum Absorption	<input type="text" value="7200"/>	mA	

**\*to be filled and adjusted by the user. It is recommended to perform the tests in duplicate.**

## Pipetting Sequence

Test Procedure Number

Test Procedure Name

### Sampling cycles

Number of Cycles	Transmission Arm	Final Washing	Rotors/transfert Action	Time Window [sec]	
				Min	Max
1	Arm	normal	No mix./Measure	0	0
2	Reagent Arm	normal	Incubation	220	260
3	Reagent Arm	High	No mix./Measure	0	0
4	Reagent Arm	High	...		

  

Transm. Number	Mean/pipetting purpose	Reagents	Speed	Volume (µl)
1	1 Take air		Slow	20
	2 Take the sample		Slow	50
	3 In the external cup		Slow	50
2	1 Take air		Slow	20
	2 Take the Reagent	R1 Hirudin	Slow	100
	3 In the central cup		Slow	100
3	1 Take air		Slow	20
	2 Take the Reagent	R2 Hirudin	Slow	100
	3 In the Internal cup		Slow	100
	4** Take the Reagent	SCS Cleaner	Slow	0

**\*\*it can be suppressed if an error is generated on the instrument, or for economical or time gain.**

Test Definition					
<b>General Information</b>					
Former Change					
Name	TI Low			°Test N°	
Result Unit				PC ID t	
Behring	µg/ml	Conversion factor		Abbreviation	TI Low
User	µg/ml	1 µg/ml	1.0	µg/ml	Place in the liste
PC	µg/ml	1 µg/ml	1.0	µg/ml	...
					Digit number for results
					100.0

### Test detailed procedures

Test Procedure Name	Evaluation Method
TI Low	Delta A fix (Fixed absorption)

### Calculate Raw Data Formula

Formula Type	Minimum	
User own's Formula		
Raw data unit	mE/min or <b>SEC</b>	(or sec)

### Detailed test evaluation

<b>Reference range</b>	Result Determination		<b>Standard Concentrations</b>
	0.0* µg/ml	at 2.0 or 0.5) * µg/ml	
<b>Test used for Calibration</b>			
<b>Evaluation</b>	Regression Lin-Lin		
<b>Reference Curve</b>	Measure curve		
<b>Minimum raw value</b>	0.0		
<b>Upper Extrapolation</b>	1.0	x maxi concentration	
<b>Lower Extrapolation</b>	1.0	x mini concentration	
<b>Calibrator</b>	Hirudin calibrator low		
<b>Authorized SD respectively to the reference curve</b>	0	%	
<b>Maximal number repeats</b>	0		

## **HIGH RANGE:**

Suitable to assay samples in the expected range >2 to 5 µg/ml Hirudin (eg in ECC).

Proceed as previously, but with the following changes:

- Well identify a **new test / procedure name** (eg : TI HIGH) each time is it required
- The calibration curve must be in the range 0 to about 5 µg/ml (or “C” µg/ml) for Hirudin.
- In “general information”, **the dilution factor must be programmed at 1:20** (instead of 1:8 previously)
- The reference range is then from about 0 to 5µg/ml

---

**Note :** as an indication, the basic clotting time (CT) obtained for the « 0µg/ml » concentration (normal plasma) is expected near 30 sec ; and near 90 seconds (variable according to the reagents lots and test conditions) for 2µg/ml Hirudin or Argatroban for example, when a 1:8 dilution is used (low range).

The obtained CT remain similar when the High range procedure (1:20 dilution) is used (eg near 30 sec for 0µg/ml and near 90 seconds for 5µg/ml Hirudin)



Fabricant: HYPHEN BioMed

# HEMOCLOT THROMBIN INHIBITORS sur BCS

Détermination chronométrique  
de la concentration en HIRUDINE (ou autres inhibiteurs directs de la thrombine)

## 1. RECONSTITUTION DU REACTIF, HEMOCLOT THROMBIN INHIBITORS

- Se référer à chaque notice spécifique.
- Les réactifs sont équilibrés à température ambiante, puis homogénéisés et équilibrés à 37°C sur BCS avant de réaliser le dosage.

### • # ACK002K :

	Nom	Reconstitution	Stabilité(*)	Stabilisation en T°
R1	Normal Plasma Pool	1 ml d'eau distillée (*)	Refer notice	30 mn à bord de l'automate avant toute utilisation (**)
R2	Thrombine Calcique humaine	1 ml d'eau distillée (*)		

### • # ACK002L :

	Nom	Reconstitution	Stabilité(*)	Stabilisation en T°
R1	Normal Plasma Pool	2,5 ml d'eau distillée (*)	Refer notice	30 mn à bord de l'automate avant toute utilisation (**)
R2	Thrombine Calcique humaine	2,5 ml d'eau distillée (*)		

**\*La stabilité indiquée sur la notice a été obtenue sur flacons reconstitués, conservés fermés, donc exempts et sous réserve de toute évaporation ou contamination. La stabilité doit être contrôlée, et ajustée et validée si nécessaire en fonction des conditions de travail exactes de chaque laboratoire.**

**\* 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 :** - 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 remettez 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.**

## **2. REACTIFS NECESSAIRES MAIS NON FOURNIS:**

- **DILUANT:** Tampon Owren Koller (ex AAR003A/K) ou Serum Physiologique (NaCl 9 g/L).

**Le même diluant doit être utilisé pour tous les tests réalisés.**

- **CALIBRATION:** Calibrateur de Référence Interne titré pour l'Inhibiteur de Thrombine à doser (DTI). Alternativement, les calibrateurs suivants sont disponibles :

**Pour test de l'Hirudine:**

Plasma Hirudin Standard Low (Ref : ASC020K) en utilisant la calibration Gamme Basse.  
OU

Plasma Hirudin Standard High (Ref : ASC020L) en utilisant la calibration Gamme Haute.

**Pour test de l'Argatroban®:**

Argatroban® Plasma Calibrator (Ref: ASC030K) en utilisant la calibration Gamme Basse.

**Pour test du Dabigatran:**

Dabigatran Plasma Calibrator (Ref: A222801) en utilisant la calibration Gamme Basse.

- **CONTROLE QUALITE:** Contrôle de qualité de référence internes titrés pour l'Inhibiteur de Thrombine à doser (DTI). Alternativement, les contrôles suivants sont disponibles :

**Pour test de l'Hirudine:** Plasma Hirudin Control (Ref : ASC025K)  
(C1 mieux adapté pour gamme basse; C2 mieux adapté pour gamme haute).

**Pour test de l'Argatroban®:** Argatroban® Control Plasma (Ref: ASC035K)

**Pour test du Dabigatran:** Dabigatran Control Plasma (Ref: A224701)

## **3. Calibrateurs et Contrôles :**

**Précautions:** Se référer à chaque notice spécifique pour le **volume de reconstitution**, la **stabilité après reconstitution** (indiquée sous réserve de toute contamination ou évaporation. La stabilité peut être ajustée en fonction des conditions de travail exactes), et la **stabilisation avant toute utilisation**.

**Se référer aux concentrations exactes indiquées sur le papillon pour chaque lot.**

**Nota :** Dans le cas d'utilisation de calibrateurs 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 calibrants ainsi que celui des contrôles : 30 minutes à l'intérieur de l'automate et particulièrement s'ils ont été conservés à +2°-8°C (avec leurs bouchons respectifs). Veiller à limiter tout risque de contamination ou d'évaporation des réactifs. La stabilité peut être ajustée si nécessaire en fonction des conditions de travail exactes du laboratoire.

**Homogénéiser avant chaque utilisation.**

**Ne pas congeler les plasmas de calibration, ni les contrôles de qualité.**

**Les plasmas de contrôle de qualité doivent être passés régulièrement, et à chaque changement de lot de réactif, après toute maintenance importante de l'analyseur, et lorsque les résultats des Contrôles de Qualité ne sont pas dans les valeurs attendues pour la méthode.**

Les performances sont susceptibles de varier légèrement en fonction du DTI testé et de l'instrument utilisé. Valider les valeurs attendues dans les conditions de travail exactes du laboratoire.

Il est conseillé de passer au moins un contrôle de qualité à divers niveaux chaque fois qu'une série de dosages est effectuée, afin de la valider.

#### "Calibration GAMME BASSE" (usuelle) :

- Préparer la gamme de standards appropriée:

- D'environ 0 à 2µg/ml Hirudine (5 niveaux ex: 0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 ou "C" µg/ml, obtenus par mélange des volumes appropriés des 2 calibrateurs "gamme basse" fournis, #ASC020K, selon le tableau suivant :

Hirudine	µg/ml	0	C/4	C/2	3C/4	C
Plasma à "C" (environ 2 µg/ml) en µl		0	75	150	225	300
Normal Plasma (environ 0µg/ml) en µl		300	225	150	75	0

Si nécessaire, ces volumes peuvent être augmentés proportionnellement, afin d'avoir un volume suffisant permettant une bonne gestion des volumes par l'automate.

- D'environ 0 à 2µg/ml Argatroban® (5 niveaux de calibrants prêts à l'emploi, #ASC030K)
- D'environ 0.05 à 0.50 µg/ml Dabigatran (3 niveaux de calibrants prêts à l'emploi, #A222801)

- Se référer aux concentrations exactes indiquées sur le papillon pour chaque lot.
- Les calibrants doivent ensuite être testés à la dilution 1/8 (directement gérée par l'automate).

#### "Calibration GAMME HAUTE" (pour l'Hirudine) :

- Préparer la gamme haute d'environ 0 à 5µg/ml Hirudine (5 niveaux ex: 0, 1.25, 2.50, 3.75, 5.0 ou "C" µg/ml, obtenus par mélange des volumes appropriés des 2 calibrateurs "gamme haute" fournis, #SC020L, selon le tableau suivant :

Hirudine	µg/ml	0	C/4	C/2	3C/4	C
Plasma à "C" (environ 5 µg/ml) en µl		0	75	150	225	300
Normal Plasma (environ 0µg/ml) en µl		300	225	150	75	0

Si nécessaire, ces volumes peuvent être augmentés proportionnellement, afin d'avoir un volume suffisant permettant une bonne gestion des volumes par l'automate.

- Se référer aux concentrations exactes indiquées sur le papillon pour chaque lot.
- Les calibrants doivent ensuite être testés à la dilution 1/20 (directement gérée par l'automate).

#### 4. Résultats:

- La courbe d'étalonnage est du type Lin (Temps de Coagulation, TC, en secondes) en ordonnée - Lin (concentration du DTI à doser, en µg/ml) en abscisse.
- Si la dilution des contrôles et échantillons à tester est la dilution standard, la concentration en DTI de l'échantillon à doser est déduite directement de la courbe d'étalonnage.
- Les résultats sont exprimés en µg/ml de DTI.

La gamme d'étalonnage est valide lorsque la linéarité est conforme ( $r^2 \geq 0.98$ ), 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 temps obtenus et les performances du test peuvent varier légèrement selon le DTI testé, l'instrument utilisé, le mode de détection du caillot, et selon la sensibilité du réglage de la détection de la formation du caillot. 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.

**NOTE: Pour éviter toute erreur, prendre soin de créer et bien identifier les réactifs appropriés et une procédure spécifique pour chaque DTI et niveau de concentrations testé.**

## 5. PROGRAMMATION DE L'AUTOMATE

### Création des réactifs

Rentrer dans définition de test.

<b>Nom :</b> HIRUDIN R1			
Abréviation :		HIR 1	
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			> = 15C
<b>Mélange par jet</b>			
Intensité		1	
Fréquence		Pas d'agitation	
<b>Numéros de référence</b>			
	Numéro		
	Ajouter	Supprimer	Remplacer

<b>Nom :</b> HIRUDIN R2			
Abréviation :		HIR 2	
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			> = 15C
<b>Mélange par jet</b>			
Intensité		1	
Fréquence		Pas d'agitation	
<b>Numéros de référence</b>			
	Numéro		
	Ajouter	Supprimer	Remplacer

### Création des points de gamme d'étalonnage

Créer un tableau pour chaque point de gamme (ex : « jeu de calibreurs »)(gamme haute et gamme basse) sur les modèles suivants :

<b>Nom :</b> HIRUDIN GB1			
Abréviation :		HIR GB1	
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> HIRUDIN GH1			
Abréviation :		HIR GH1	
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 si nécessaire

### Création des contrôles

Créer les plasmas de contrôle de qualité pour le DTI à tester (sur le même principe que pour les calibrateurs), préférentiellement à 2 niveaux appropriés, au sein de la zone de concentrations testée.

(Pour information, si les Hirudin Control Plasmas (#ASC025K) sont utilisés, C1 est plus représentatif pour la gamme basse et C2 est plus représentatif pour la gamme haute).

### Création de la procédure :

Une fois les différents réactifs, calibrateurs et contrôles créés, il faut créer la procédure.

Aller dans « définition de tests, procédure » et taper les paramètres suivants.

### **NOTE:**

**Selon le DTI testé et la zone de mesure utilisée pour la calibration, deux procédures doivent être créées :**

**Procédure pour GAMME BASSE (0 à 2 µg/ml Hirudine ou 0 à 2µg/ml Argatroban® ou 0.05 à 0.5µg/ml Dabigatran), spécifique pour chaque DTI testé**

**OU**

**Procédure pour GAMME HAUTE (0-5 µg/ml Hirudine)**

## **GAMME BASSE (USUELLE)**

Permet de doser des concentrations d'environ 0.1 à 2µg/ml Hirudine ou Argatroban®, ou d'environ 0.05 à 0.50 µg/ml Dabigatran.

### **Informations Générales**

Changement antérieur			
Numéro de la procédure test			
Nom de la procédure de test	TI bas		
Terminer la mesure après	150 sec	Ou	mA (0 = il n'importe que le temps de mesure)
Vitesse	0		
Mélange	normal		
Longueur d'onde	405 nm		
Plage d'absorbance primaire	201-240 mA		
Doublet n* pour échantillon et contrôles (*)	**	CV Autorisé (*)	** %
Doublet n* pour la calibration (*)	**	CV Autorisé (*)	** %
Doublet n* du sommaire de valeurs brutes	Moyenne arithmétique		
Facteur de dilution	1 : 8	(1 = pas de dilution)	
Milieu de dilution	Owren ou Serum Phy		

### **Méthodes d'évaluations et de contrôles**

#### **Absorption fixe**

Phase de latence	7	Secondes	Seuil	300	mA
------------------	---	----------	-------	-----	----

#### **Angle**

Latence	7	Sec	Seuil	300	mA
Taille de la fenêtre	3	Sec			
Angle minimum	15.0	Angle			

#### **Baisse**

Phase de latence	7	Secondes			
Baisse max. de l'absorbance	10	%			

#### **Sinusoïde**

Phase de latence	7	Sec	Seuil de base	300	mA
Amplitude minimale	100	mA	Facteur de seuil	2.0	
Nombre d'étapes	10		Limites	20.0	

#### **AMaxMin**

Phase de latence	7	Secondes			
Absorption minimum/maximum	7200	mA			

(\*) à renseigner et ajuster par l'utilisateur. Il est recommandé de travailler en duplicate.

Séquence de pipetage					
Numéro de la procédure de test					
Nom de la procédure de test		TI bas			
Cycle de prélèvement					
Numéro De Cycle	Bras de transmission	Lavage Final	Action de Rotors/transfert	Fenêtre de temps [sec]	
				Min	Max
1	Bras	normal	Pas de Mélange/mesure	0	0
2	Bras de réactif	normal	Incubation	220	260
3	Bras de réactif	élevé	Pas de Mélange/mesure	0	0
Milieu de prélèvement					
Num de transm.	Moyen/destination De pipetage		Réactif	Vitesse	Volume (µl)
1	1	Charger de l'air		Lent	20
	2	Charger l'échantillon		Lent	50
	3	Dans la cuvette externe		Lent	50
2	1	Charger de l'air		Lent	20
	2	Charger le réactif	R1 Hirudin	Lent	100
	3	Dans la cuvette centrale		Lent	100
3	1	Charger de l'air		Lent	20
	2	Charger le réactif	R2 Hirudin	Lent	100
	3	Dans la cuvette Interne		Lent	100
	4**	Charger le réactif	SCS Cleaner	Lent	0

\*\* peut être supprimé si entraîne des erreurs sur BCS

## Définition du test

Information générale					
Changement antérieur					
Nom	TI bas		N° du test		
Unité de résultats pour			ID ordinat		
Behring	µg/ml	Facteur de conversion		Abréviation	TI Bas
L'utilisateur	µg/ml	1 µg/ml =	1.0 µg/ml	Séquence dans listes	...
L'ord central	µg/ml	1 µg/ml =	1.0 µg/ml	Format de chiffres pour l'affichage des résultat.	
					100.0

### Détails des procédures de test associées

Nom de la procédure de test	Méthode d'évaluation
TI Bas	Absorption Fixe

### Formule de calcul de la valeur brute

Type de Formule	Minimum	
Formule définie par l'utilisateur		
Unité de la valeur brute	mE/min ou <b>SEC</b>	

### Détails de l'évaluation du test

Détermination des résultats		<b>Concentrations demandées</b>
Intervalle de référence de	0.0 µg/ml à 2.0 ou 0.5, ou 5.0* µg/ml	
Informations en cas d'évaluation à l'aide de la courbe de calibration Sélection si le résultat est calculé sur la base de la courbe d'un autre test		
Test utilisé pour la calibration	Vide = pas de test sélectionné	
Information si des procédures propres sont utilisés		
Evaluation	Régression en Lin-Lin	
Définir la courbe	Mesurer la courbe de calibration	
Concentrations officielles		
Information si la courbe est mesurée		
Valeur brute minimum	0.0	
Extrapolation supérieure	1.0 x concentration maximum	
Extrapolation inférieure	1.0 x concentration minimum	
Standard	DTI calibrateur approprié (jeu de calibrateurs)*	
Ecart autorisé par rapport à la courbe de validation	0 %	
Nombre maximal des répétitions	0	

(\* ) Les concentrations exactes de chaque calibrateur sont indiquées pour chaque lot sur le papillon fourni dans le coffret.

## **GAMME HAUTE POUR HIRUDINE:**

Permet de mesurer des concentrations attendues >2 à 5µg/ml Hirudine (ex : pour CEC).

Procéder comme précédemment, mais en introduisant les modification suivantes:

- Bien identifier un **nouveau test /nom de procédure** à chaque fois que nécessaire (ex: TI HAUT).
- La **courbe de calibration doit être de 0 à environ 5 µg/ml** (ou "C" µg/ml) Hirudine.
- Dans l'onglet « information générale », le **facteur de dilution doit être programmé au 1/20** (au lieu du 1/8 précédemment).
- L'intervalle de référence est alors d'environ 0 à 5µg/ml.

---

**Remarque :** à titre indicatif, les temps de base attendus sont de l'ordre d'environ 30 secondes pour les plasmas normaux (0 µg/ml), et autour de 90 secondes (variable selon les lots de réactifs et les conditions de test) pour 2µg/ml d'Hirudine ou d'Argatroban® par exemple, avec une dilution de travail au 1:8 (gamme basse).

Les temps de coagulation restent similaires lorsque la procédure gamme haute est utilisée (soit environ 30 sec pour 0 µg/ml et proches de 90 sec pour 5 µg/ml Hirudine).