



Manufactured By: HYPHEN BioMed

HEMOCLOT PS

ON STA-R

Assay of PS clotting activity on STAR



1. Reconstitution of Hemoclot PS (# ACK041K) reagents.

	NAME	Reconstitution	Stability*	T° Stabilization
R1	PS deficient plasma	1 ml of distilled water *	Refer to the insert	** 30 mn on board before any use
R2	Activator	1 ml of distilled water *		

*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 for at least 15 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.

Reagents required but not provided:

- Plasma Calibrator titrated for PS (eg: Biophen Plasma Calibrator #A222101)
- Normal and Abnormal quality control plasmas titrated for PS (ex: BIOPHEN Normal Control Plasma (#A223201) and BIOPHEN Abnormal Control Plasma (#A223301)).
- Distilled water, preferentially sterile.
- Calcium chloride 0.025M (eg: # AAR001A/AAR001K).
- Imidazole buffer (eg: # AAR021A/AAR021K/AAR021L);

Note: using microcups can help the STAR to better manage the reagents volumes.



2. Preparation of the calibration curve and controls/samples.

• Calibration curve:

- Calibration is performed with normal pooled citrated plasma with the assigned value of 100% PS. The assay includes a standard plasma dilution of **1:10 (managed by the automate)**. By definition, this later dilution of the pool represents the **100%** PS activity. If the standard is less than 100%, it is possible to adjust its concentration by using a lower dilution factor.

Or

-Calibration is performed with a commercially available plasma calibrator, with a known PS Concentration (eg **Biophen Plasma Calibrator #A222101, to be titrated, in progress**). The **1:10 (managed by the automate)** corresponds to the indicated PS concentration ("C%").

Nota: If the standard is less than 100%, it is possible to adjust its concentration by using a lower dilution factor.

• Tested plasma and controls:

In these conditions, tested plasmas and controls are loaded "undiluted" and assayed at the 1:10 dilution (managed by the STAR). Samples expected at a normal concentration (>100%, can be assayed at the 1:20 dilution (test dependent).

Controls: The control is performed with commercially available control plasmas, titrated for PS.

Various control plasma are available (**to be titrated, in progress**): **Biophen Normal Control Plasma (#A223201)**, and **Biophen Abnormal Control Plasma (#A223301)**

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.

Performances may present slight variations according to 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.

3. Results:

- The calibration curve (working range) is of the Log (CT, in seconds) – Lin (PS concentration, in %) type.
- The values obtained for patients and controls are directly calculated from the calibration curve (when the standard 1:10 dilution is used for the test).
- The results are expressed as % PS activity.

The calibration curve is validated when linearity (r²), 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).

Clotting times and performances may present variations according to the instrument used, and to the clot detection sensitivity adjustment. 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.

4. Programming the STA-R analyser:

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

Allows measuring concentrations in the range of about 10-100% PS (recommended).

TESTS				Configuration			
Method							
IDENTIFICATION							
Abbreviation			HEMPS		Last up date		
Name		HEMPS			Method	CLOT-BASED	
SAMPLE				DILUENT			
Vol. µl	Incu.	Dilution	Id.	Name		Stab. h	Continued
50µl	0 sec	1/10	IM	Imidazole		(*)	
REAGENTS							
	Id.	Name		Stab. h	Vol. µl	Incu. sec	Prec.
Ra	R1	R1 DEF PS		(*)	50	120	<input type="checkbox"/>
Rb	R2	R2 Activator		(*)	50	180	<input checked="" type="checkbox"/>
Rc							<input type="checkbox"/>
Rd	CaCl2	Calcium 0.025M		(*)	100		

Enter data concerning washing

REAGENTS								
	Id.	Name	Stab. h	Vol. µl	Incu. sec	Prec.	Vial. ml	Min.Vol ml
Diluent	IM	Imidazole	(*)				25	5
Ra	R1	R1 DEF PS	(*)	50	120	<input type="checkbox"/>	1	0.2
Rb	R2	R2 Activator	(*)	50	180	<input checked="" type="checkbox"/>	1	0.2
Rc						<input type="checkbox"/>		
Rd	R3	Calcium 0.025M	(*)	100			25	5
Washing								
	Ra		Rb		Rc		Rd	
Before	Non		Non				Special	
After	Normal		Normal				Normal	
Wash							12227	
Name							STA- DESORB U	
Stab. H							120	
Vial ml							15	
Vol in. ml							0.9	

(*) To be filled by the user, according to the instructions of the insert, and to the exact use conditions.

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

TESTS		Configuration	
		Result	
METHOD		RESULT	
Min. Time	35	Primary Unit	%
Max Time	200	Correction factor	1.00
Mean Time	150		
Clot	<u>Normal</u>	Single/Duplicate	
		<input checked="" type="radio"/> Single*	
		<input type="radio"/> Duplicate	
		Precision (%)	10.0*
		Redilution	Condition
		1/	<
		1/	>
<input checked="" type="checkbox"/> Rd Heating		VALIDATION %	
<input checked="" type="checkbox"/> Stirring			
		Min.	Max.
		10*	100*

*Or user adjusted. Testing in duplicate is recommended. For better accuracy, sample redilution is recommended for <10% or >100% PS

Write calibration data.

TESTS		Configuration	
		Calibration	
MODE :		Linear regression	
		Determination	
		<input checked="" type="checkbox"/> Single * Duplicate	
ASSAYS		Concentrations	
SCALE :	<input type="checkbox"/> Linear <input checked="" type="checkbox"/> Log	<input checked="" type="checkbox"/> Linear <input type="checkbox"/> Inverse <input type="checkbox"/> Log	
	Id.	Key	Name
Std 1	CAL		CAL
Std 2	CAL		CAL
Std 3	CAL		CAL
Std 4	CAL		CAL
Std 6	IM		Imidazole
Ctrl, Niv. 1			
Ctrl, Niv. 2			

*or duplicate, user adjusted. **According to the calibrator used (homogenize before each use).

Note: it is recommended to run the assay alone on the machine. the instrument can sometimes have difficulties to manage accurate incubation times; in this case it is recommended to run a limited number of samples at the same time so that the instrument can satisfiably manage the test.

Click on the icon **Printout/Transmission software** for the **manager program** and create the program according to:

TESTS		Configuration				
		Printout/Trans.				
PARAMETERS						
	Units	Factor Convers	Print	Transmission Test numbers	Usual Values Min. Max.	
Main	%		v	0	60(*)	140(*)
Aux1	SEC		v	0		
Aux2						
Aux3						
Printout Limits						
Min.	<input type="text" value="0"/>	Max.	<input type="text" value="200"/>			

(*) to be adjusted by the user.

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

TESTS		Configuration				
		Q.C				
LEVEL 1						
	Id.	Key	Name	Stab. h	Vial. ml	Min Vol ml
Control	BNC		BN CONT	*	*	*
LEVEL 2						
	Id.	Key	Name	Stab. h	Vial. ml	Min Vol ml
Control	BAC		BA CONT	*	*	*
LEVEL 3						
	Id.	Key	Name	Stab. h	Vial. ml	Min Vol ml
Control				*	*	*
Period : <input type="text"/> hours <input type="text"/> Tests <input type="text"/> Vial						

*According to the controls used (homogenize before each use).

INDICATIVELY: CT (0% PS) = about 50 ± 10sec; CT (100%PS) = about 90 ± 120sec

**Détermination chronométrique de
l'activité PS**



I. RECONSTITUTION DES REACTIFS HEMOCLOT PS (réf : ACK041K) :

	Nom	Reconstitution	Stabilité*	Stabilisation en T°
R1	PS déficient plasma	1ml d'eau distillée (*)	Refer notice	30 minutes avant toute utilisation (**)
R2	Activator	1ml 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 d'au moins 15 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.

Note : réactifs nécessaires et non fournis :

- Plasma de calibration titré en PS (ex : Biophen Plasma Calibrator #A222101)
- Plasmas de contrôle de qualité Normal et Anormal titrés en PS (ex : BIOPHEN Normal Control Plasma #A223201 et BIOPHEN Abnormal Control Plasma #A223301).
- Eau distillée, de préférence stérile.
- Chlorure de Calcium 0.025M (ex : réf AAR001A/AAR001K).
- Tampon Imidazole (ex : réf AAR021A/AAR021K/AAR021L).

Note : lors de la réalisation du test, travailler en microcup adapté peut aider à une bonne gestion des volumes de réactifs par l'automate.

II. Préparation de la gamme d'étalonnage et des contrôles

- **Gamme d'étalonnage :**

La gamme d'étalonnage est réalisée à l'aide d'un pool de plasmas citratés normaux, qui par définition titre 100 % de PS. Le dosage intègre une dilution (**gérée par l'automate**) du plasma au **1/10**, qui par définition représente le taux 100 % de PS. Par exemple, la dilution au **1/10** pour le pool représente **100 %** de PS.

OU

La gamme d'étalonnage peut être réalisée à partir d'un calibre du commerce, de concentration (C) en PS précisément définie (ex : **Biophen Plasma Calibrator - réf A222101**). Le dosage intègre une dilution (**gérée par l'automate**) du calibre au **1/10**, qui par définition représente le taux C % de PS ;

Nota : Si le calibrant est inférieur à 100%, il est possible de le concentrer en ajustant sa dilution.

Plasma à tester et contrôles :

Dans ces conditions, les plasmas à tester et contrôles sont chargés « purs » et testés dilués (**par l'automate**) au **1/10** dans le test.

Contrôles : Utiliser les contrôles disponibles sur le marché et dont le taux en PS est précisément défini.

Ex : **Biophen Normal Control plasma (ref A223201) et Biophen Abnormal Control Plasma (réf A223301)**.

Nota : Dans le cas d'utilisation de calibre 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. 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.

Note : 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.

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 niveaux chaque fois qu'une série de dosages est effectuée.

III. RESULTATS

- La courbe d'étalonnage est du type Log (TC, en secondes) – Lin (concentration PS, en %).
- Si la dilution des échantillons à tester est la dilution standard (1/10), la concentration en PS de l'échantillon à doser est déduite directement de la courbe d'étalonnage.
- Les résultats sont exprimés en % d'activité PS.

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 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.

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 Hemoclot PS

Explore les valeurs comprises entre environ 7.5 - 150% d'activité PS (recommandé)

TESTS				Configuration				
Méthodologie								
IDENTIFICATION								
Abréviation			HEMPS		Dernière MAJ.			
Nom		HEMPS			Méthode		chronometrie	
ECHANTILLON				DILUANT				
Vol. µl	Incu.	Dilution	Id.	Nom		Stab. h	Suite	
50 µl	0 sec	1/10	IM	Imidazole		(*)		
REACTIFS								
	Id.	Nom		Stab. h	Vol. µl	Incu. sec	Préc.	Suite
Ra	R1	R1 DEF PS		(*)	50	120	<input type="checkbox"/>	
Rb	R2	R2 Activator		(*)	50	180	<input checked="" type="checkbox"/>	
Rc							<input type="checkbox"/>	
Rd	CaCl2	Calcium 0.025M		(*)	100			

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

	Id.	Nom	Stab. h	Vol. µl	Incu. sec	Préc.	Flac. ml	Vol. Min. ml
Diluant	IM	Imidazole	(*)				25	5
Ra	R1	R1 DEF PS	(*)	50	120	<input type="checkbox"/>	1	0.2
Rb	R2	R2 Activator	(*)	50	180	<input checked="" type="checkbox"/>	1	0.2
Rc						<input type="checkbox"/>		
Rd	R3	Calcium 0.025M	(*)	100			25	5
LAVAGE								
	Ra		Rb		Rc		Rd	
Avant	Non		Non				Special	
Après	Normal		Normal				Normal	
Nettoyant							12227	
Nom							STA- DESORB U	
Stab. H							120	
Flacon ml							15	
Vol en. ml							0.9	

(*) A préciser par l'utilisateur en fonction des instructions de la notice, et des conditions exactes de travail.

Cliquer sur l'onglet **Résultat** et rentrer les données suivantes :

TESTS		Configuration	
		Résultat	
ANALYSE		RESULTAT	
Temps Min.	35	Unité Princ.	%
Temps-Max	200	Fact. correction	1.00
Temps-Moy	150	Détermination	
Caillot	<input checked="" type="radio"/> Normal <input type="radio"/> Faible <input type="radio"/> Moyen	<input checked="" type="checkbox"/> Simple* <input type="checkbox"/> Double	
<input checked="" type="checkbox"/> Chauffage Rd		Ecart/moy. Max (%)	10.0*
<input checked="" type="checkbox"/> Agitation		Redilution	Condition
		1/	<
		1/	>
		ACCEPTATION	
		Min.	Max.
		15*	150*

*ou duplicate, à ajuster par l'utilisateur. Pour des résultats plus précis, tester en redilution pour des échantillons <15% ou >150% de PS.

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

TESTS		Configuration				
		Calibration				
MODE :		Regression Linéaire	Détermination <input checked="" type="checkbox"/> Simple* <input type="checkbox"/> Double			
Mesures ECHELLES :		Linéaire <input checked="" type="checkbox"/> Log	Concentrations <input checked="" type="checkbox"/> Linéaire Inverse Log			
	Id.	Clé	Nom	Stab. H	Dilution**	Suite
	CAL		CAL	**	1/10	
	CAL		CAL	**	1/15	
	CAL		CAL	**	1/20	
	CAL		CAL	**	1/40	
	IM		Imidazole	**	1/1	
Ctrl, Niv. 1						
Ctrl, Niv. 2						

*ou duplicate, à ajuster par l'utilisateur

**Selon calibrateur utilisé (bien homogénéiser avant utilisation).

Note : pour une bonne gestion du test par l'automate, il est recommandé autant que possible de réaliser ce seul test sur la machine, en passant simultanément et successivement calibration, contrôles de qualité puis patients (lancer par séries de 8 à 10 échantillons par exemple).

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

TESTS						Configuration
					Edition/Trans.	
PARAMETRES						
	Unité	Facteur Convers.	Edition	Rang Transmission	Valeurs Usuelles Min. Max.	
Princ.	%		v	0	60*	140*
Aux1	sec		v	0		
Aux2						
Aux3						
LIMITES D'EDITION						
Min.	<input type="text" value="0"/>	Max.	<input type="text" value="100"/>			

*Ou ajusté par l'utilisateur.

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

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

TESTS						Configuration
					C.Q.	
NIVEAU 1						
	Id.	Clé	Nom	Stab. h	Flac. ml	Vol. Min. ml
Contrôle	(*)		(*)	*	*	*
NIVEAU 2						
	Id.	Clé	Nom	Stab. h	Flac. ml	Vol. Min. ml
Contrôle	(*)		(*)	*	*	*
NIVEAU 3						
	Id.	Clé	Nom	Stab. h	Flac. ml	Vol. Min. ml
Contrôle				*	*	*
Période : <input type="text"/> heures <input type="text"/> <input type="checkbox"/> Tests <input type="checkbox"/> Flacon						

(*) à renseigner par l'utilisateur suivant les contrôles utilisés (bien homogénéiser avant utilisation)

A titre indicatif : TC(0%PS) environ 50 ±10 secondes, et TC(100% PS) environ 90 - 120 secondes.

Hemoclot PS sur STA-R

5/5

D.750.06/CK/041/STAR

HYPHEN BioMed - Version 07/06/2011

NIARA

7768 Service Center Drive • West Chester OH 45069

Phone: 513.770.1991

Toll Free: 866.783.3797

Fax: 513.573.9241

Email: info@aniara.com

www.aniara.com