

Adaptation of BIOPHEN HEMOCLOT V-L on STA-R

1. Reconstitution of BIOPHEN HEMOCLOT V-L (Ref ACK061K) reagent.
(Ref ACK061L)

Determination of factor V-Leiden activity with a clotting method

NAME	Reconstitution	Stability	Stabilization at the room Temperature
R1	4ml distilled water (*)	8 hours at room T° 24hours at 2-8 °C 1 month at -20°C	30 mn before any use (**)
R2A	1ml distilled water (*)	8 hours at room T° 24hours at 2-8 °C 1 month at -20°C	30 mn before any use (**)
R2B	1ml distilled water (*)	8 hours at room T° 24hours at 2-8 °C 1 month at -20°C	30 mn before any use (**)
R3	4 ml Distilled water (*)	8 hours at room T° 24hours at 2-8 °C 1 month at -20°C	30 mn before any use (**)

Reconstitution:

(*) Following reconstitution with distilled water, let the 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 reagent temperature to stabilize for at least 30 minutes on the automate before any use.

2. Determination of Factor V-Leiden activity

NAME	Reconstitution	Stability	Stabilization in T°
Quality controls Biophen Normal Control (ref A223201)	1 ml of distilled water (*)	24 hours at 2-8°C 8 hours at room T° Do not freeze	30 minutes <i>on STA-R board</i> before any use (**)
Biophen ACT PCr Control. (ref A223405)	0.5 ml of distilled water (*)	24 hours at 2-8°C 8 hours at room T° Do not freeze	30 minutes <i>on STA-R board</i> before any use (**)

Reconstitution:

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

Conservation of reagents:

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

Foot-note: Do not freeze controls.

3. Results:

- The clotting times obtained for patients plasmas and controls with (CT2) or without (CT1) APC, are expressed in seconds, for each patient, the ratio CT2/CT1 between both clotting times must be calculated.
- The ratio of the Clotting Times obtained with or without APC, CT2/CT1, allows measuring the sensitivity of Factor V, in the tested specimen, to the action of Activated Protein C.
- Normal plasma, containing normal Factor V, is sensitive to this action, and yields a ratio: $CT2/CT1 \geq 2.00$
- Plasmas from patients carrying the R506Q mutation of Factor V, i.e. containing Factor V Leiden, yield a ratio: $CT2/CT1 \leq 1.80$.
- Molecular biology allows confirming the diagnosis, and classifying patients as heterozygous or homozygous.

NOTA: For a same reagent lot and a same tested specimen, CT1 and CT2 may present variations according to the instrument used, and to the clot detection sensitivity adjustment. This might affect the CT2/CT1 ratio. Always validate the cut-off values used for normals and for patients carrying the Factor V mutation, and, if necessary, adjust them.

4. Programming of the STA.-R analyzer:

Click on the icon **set up software** for the **manager program** and create the program for CT2 (VL2) according to:

TESTS				Configuration				
Method								
IDENTIFICATION								
Abbreviation			CT2		Last up date			
Name		HEMO VL2			Method	CLOT-BASED		
SAMPLE				DILUENT				
Vol. μ l	Incu.	Dilution	Id.	Name		Stab. h	Min Vol	
50 μ l	0 sec	1/10	11361	OWREN KOLLER		72	0.9	
REAGENTS								
	Id.	Name		Stab. h	Vol. μ l	Incu. sec	Prec	Continued
Ra	R1	R1 HEM VL		8	50	0	<input type="checkbox"/>	
Rb	R2B	R2B HEM VL		8	25	120	<input type="checkbox"/>	
Rc							<input type="checkbox"/>	
Rd	R3	R3 HEM VL		8	50			

Enter data concerning washing

	Id.	Name		Stab. h	Vol. μ l	Incu. sec	Prec.	Vial. ml	Min Vol ml
Diluent	11361	OWREN KOLLER		72				15	0.9
Ra	R1	R1 HEM VL		8	50	0	<input type="checkbox"/>	4	0.2
Rb	R2B	R2B HEM VL		8	25	120	<input type="checkbox"/>	1	
Rc							<input type="checkbox"/>		
Rd	R3	R3 HEM VL		8	50			4	0.2
Washing									
	Ra		Rb		Rc		Rd		
Before	No		No				No		
After	Normal		Special				Intensive		
Wash			12227						
Name			DESORB U						
Stab. H			120						
Vial ml			15						
Vol in. ml			0.90						

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	8	1	0.2
LEVEL 2						
	Id.	Key	Name	Stab. h	Vial. ml	Min Vol ml
Control	VLAB		VLAB CONT	8	1	0.2
LEVEL 3						
	Id.	Key	Name	Stab. h	Vial. ml	Min Vol ml
Control						
Period: <input type="text"/> hours <input type="text"/> <input type="checkbox"/> Tests <input type="checkbox"/> Vial						

2. Configuration CL1 (VL1)

TESTS							Configuration	
Method								
IDENTIFICATION								
Abbreviation		CT1			Last up date			
Name		HEMO VL1			Method		CLOT-BASED	
SAMPLE				DILUENT				
Vol. μ l	Incu.	Dilution	Id.	Name			Stab. h	Min Vol
50 μ l	0 sec	1/10	11361	OWREN KOLLER			72	0.9
REAGENTS								
	Id.	Name		Stab. h	Vol. μ l	Incu. sec	Prec	Continued
Ra	R1	R1 HEM VL		8	50	0	<input type="checkbox"/>	
Rb	R2A	R2A HEM VL		8	25	120	<input type="checkbox"/>	
Rc							<input type="checkbox"/>	
Rd	R3	R3 HEM VL		8	50			

Enter data concerning washing

	Id.	Name	Stab h	Vol. μ l	Incu. sec	Prec.	Vial. ml	Min Vol ml
Diluent	11361	OWREN KOLLER	72				15	0.9
Ra	R1	R1 HEM VL	8	50	0	<input type="checkbox"/>	4	0.2
Rb	R2A	R2A HEM VL	8	25	120	<input type="checkbox"/>	1	
Rc						<input type="checkbox"/>		
Rd	R3	R3 HEM VL	8	50			4	0.2
Washing								
	Ra		Rb		Rc		Rd	
Before	No		No				No	
After	Normal		Intensive				Intensive	
Wash								
Name								
Stab. H								
Vial ml								
Vol in. ml								

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

TESTS		Configuration					
		IV. Result					
METHOD CLOT-BASED		RESULT					
Min. Time	20	Primary units.	Sec				
Max Time	90	Corrector	1.00				
Mean Time	40	Single/Duplicate					
Clot type	<input checked="" type="radio"/> Normal			<input checked="" type="radio"/> Single			
	<input type="radio"/> weak			<input type="radio"/> Duplicate			
	<input type="radio"/> Mean						
		Precision (%)	5.00	VALIDATION			
<input checked="" type="checkbox"/> Rd Heating <input checked="" type="checkbox"/> Stirring		Redilution	Condition			Min.	Max.
		Sec	<				10
		>					

Write calibration data.

TESTS		Configuration	
		V. Calibration	
MODE :	Brut : The results are given in measured units (sec)	Determination	
		<input type="checkbox"/> Duplicate <input checked="" type="checkbox"/> Single	

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

TESTS		Configuration			
VI.		Printout/Trans.			
PARAMETERS					
	Unit	Conver Factor	Print	Transmission Test number	Usual Values Min. Max.
Main	SEC		<input checked="" type="checkbox"/>	0	10 90
Aux1			<input type="checkbox"/>		
Aux2			<input type="checkbox"/>		
Aux3			<input type="checkbox"/>		
Printout Limits					
Min.	10	Max.	90		

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	8	1	0.2	
LEVEL 2							
	Id.	Key	Name	Stab. h	Vial. ml	Min Vol ml	
Control	VLAB		VLAB CONT	8	1	0.2	
LEVEL 3							
	Id.	Key	Name	Stab. h	Vial. ml	Min Vol ml	
Control							
Period : <input type="text"/> hours <input type="text"/> <input type="checkbox"/> Tests <input type="checkbox"/> Vial							

Détermination chronométrique



I. RECONSTITUTION DU REACTIF, HEMOCLOT Factor V-L

(Réf : ACK061L)

(Réf : ACK061K)

Nom	Reconstitution	Stabilité	Stabilisation en T°
R1	4ml d'eau distillée (*)	24H à 2°-8°C 8 H à T° ambiante 1 mois à -20°C	30 minutes avant toute utilisation (**)
R2A	1ml d'eau distillée (*)	24H à 2°-8°C 8 H à T° ambiante 1 mois à -20°C	30 minutes avant toute utilisation (**)
R2B	1ml d'eau distillée (*)	24H à 2°-8°C 8 H à T° ambiante 1 mois à -20°C	30 minutes avant toute utilisation (**)
R3	4ml d'eau distillée (*)	24H à 2°-8°C 8 H à T° ambiante 1 mois à -20°C	30 minutes avant toute utilisation (**)

Reconstitution

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

Stabilisation en température du réactif

(**) Il est impératif de laisser la température des réactifs 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. Reconstitution des Contrôles

Nom	Reconstitution	Stabilité	Stabilisation en T°
CONTROLES <u>Biophen Normal Control</u> <u>Plasma</u> (réf A223201)	1 ml d'eau distillée (*)	24 heures à 2° -8° C 8 heures à T° ambiante Ne pas congeler	30 minutes à bord du STA-R avant toute utilisation (**)
<u>Biophen ACT PCr Control</u> <u>Plasma</u> (réf A223405)	0.5 ml d'eau distillée (*)	24 heures à 2° - 8° C 8 heures à T° ambiante Ne pas congeler	30 minutes à bord du STA-R avant toute utilisation (**)

Reconstitution

(*) Après reconstitution en eau distillée des plasmas de contrôles, respecter un temps de stabilisation de 30 minutes à température ambiante.

Conservation des réactifs

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

Ne pas congeler les plasmas de contrôles.

III. RESULTATS

- Les valeurs des patients et des contrôles sont directement rendus en temps, et les résultats sont exprimés en ratio VL2/VL1 ou T2/T1.
- Le calcul du rapport des temps de coagulation T1 et T2, réalisé sans ou avec de la Protéine C activée (PCA), permet de mesurer la sensibilité du Facteur V à l'action de la Protéine C Activée.
- Un plasma normal, contenant du Facteur V normal donne un rapport $T2/T1 \geq 2.00$
Un plasma normal peu sensible à l'action de la PCA (Facteur V-L) donne un rapport $T2/T1 \leq 1.80$
- La biologie moléculaire permet de confirmer le type hétérozygote ou homozygote.

NOTA : Pour un même lot de réactifs, et un même plasma, les temps T1 et T2 peuvent varier selon l'instrument utilisé, et selon la sensibilité du réglage de la détection de la formation du caillot. Cela peut induire des variations du rapport T2/T1, et des seuils utilisés de 1,80 et 2,00. Vérifier les valeurs seuils et la zone normale pour le lot de réactifs et l'instrument utilisé, et, le cas échéant, les ajuster en conséquence

IV. PROGRAMMATION DE L'ANALYSEUR

Programmer 2 configurations VL1 et VL2

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

1. Configuration VL2

TESTS				Configuration				
Méthodologie								
IDENTIFICATION								
Abréviation			VL2					
Dernière MAJ.								
Nom		HEMO VL2		Méthode		Chronométrique		
ECHANTILLON			DILUANT					
Vol. µl	Incu.	Dilution	Id.	Nom	Stab. h	Vol Min		
50 µl	0 sec	1/10	11361	OWREN KOLLER	72	0.90		
REACTIFS								
	Id.	Nom		Stab. h	Vol. µl	Incu. sec	Préc.	Suite
Ra	R1	R1 HEM VL		8	50	0	<input type="checkbox"/>	
Rb	R2B	R2B HEM VL		8	25	120	<input type="checkbox"/>	
Rc							<input type="checkbox"/>	
Rd	R3	R3 HEM VL		8	50		<input type="checkbox"/>	

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	11361	OWREN-KOLLER	72				15	0.9
Ra	R1	R1 HEM VL	8	50	0	<input type="checkbox"/>	4	0.2
Rb	R2B	R2B HEM VL	8	25	120	<input type="checkbox"/>	1	0.2
Rc						<input type="checkbox"/>		
Rd	R3	R3 HEM VL	8	50			4	0.2
LAVAGE								
	Ra		Rb		Rc		Rd	
Avant	Non		Non				Non	
Après	Normal		Spécial				Intensif	
Nettoyant			12227					
Nom			DESORB U					
Stab. H			120					
Flacon ml			15					
Vol in. ml			0.90					

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

TESTS		Configuration	
		Résultat	
ANALYSE CHRONOMETRIE		RESULTAT	
Temps Min.	40	Unité Princ.	sec
Temps-Max	250	Fact. correction	1.00
Temps-Moy	70	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 <input checked="" type="checkbox"/> Agitation		Ecart/moy. Max (%)	5%
		Redilution	Condition
		sec	<
		>	
		ACCEPTATION	
		Min.	Max.
		10	250

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

TESTS		Configuration	
		Calibration	
MODE :	Brut : les résultats sont rendus en unités de mesure sec	Détermination	
		<input type="checkbox"/> DOUBLE <input checked="" type="checkbox"/> SIMPLE	

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

TESTS		Configuration	
		Edition/Trans.	
PARAMETRES			
	Unité	Facteur Convers.	Edition
Princ.	Sec		<input checked="" type="checkbox"/>
Aux1			<input type="checkbox"/>
Aux2			<input type="checkbox"/>
Aux3			<input type="checkbox"/>
	Rang Transmission	Valeurs Usuelles Min.	Max.
	0	10	250
LIMITES D'EDITION			
Min.	10	Max.	250

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

Le STA-R offre la possibilité de gérer 3 niveaux différents de contrôles de qualité. A titre d'exemple, la configuration suivante est possible. Il est recommandé de passer au minimum 1 contrôle qualité.

TESTS				Configuration		
				C.Q.		
NIVEAU 1						
	Id.	Clé	Nom	Stab. h	Flac. ml	Vol. Min. ml
Contrôle	BNC		BN CONT	8	1	0.2
NIVEAU 2						
	Id.	Clé	Nom	Stab. h	Flac. ml	Vol. Min. ml
Contrôle	VL AB		VL AB CONT	8	1	0.2
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						

2. Configuration VL1

TESTS				Configuration				
Méthodologie								
IDENTIFICATION								
Abréviation			VL1		Dernière MAJ.			
Nom			HEMO VL1		Méthode			
			Chronométrique					
ECHANTILLON			DILUANT					
Vol. µl	Incu.	Dilution	Id.	Nom	Stab. h	Vol Min		
50 µl	0 sec	1/10	11361	OWREN KOLLER	72	0.90		
REACTIFS								
	Id.	Nom		Stab. h	Vol. µl	Incu. sec	Préc.	Suite
Ra	R1	R1 HEM VL		8	50	0	<input type="checkbox"/>	
Rb	R2A	R2A HEM VL		8	25	120	<input type="checkbox"/>	
Rc							<input type="checkbox"/>	
Rd	R3	R3 HEM VL		8	50		<input type="checkbox"/>	

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

REACTIFS								
	Id.	Nom	Stab. h	Vol. µl	Incu. sec	Préc.	Flac. ml	Vol. Min. ml
Diluant	11361	OWREN-KOLLER	72			<input type="checkbox"/>	15	0.9
Ra	R1	R1 HEM VL	8	50	0	<input type="checkbox"/>	4	0.2
Rb	R2A	R2A HEM VL	8	25	120	<input type="checkbox"/>	1	0.2
Rc						<input type="checkbox"/>		
Rd	R3	R3 HEM VL	8	50			4	0.2
LAVAGE								
	Ra		Rb		Rc		Rd	
Avant	Non		Non				Non	
Après	Normal		Intensif				Intensif	
Nettoyant								
Nom								
Stab. H								
Flacon ml								
Vol in. ml								

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

TESTS		Configuration	
		Résultat	
ANALYSE CHRONOMETRIE		RESULTAT	
Temps Min.	20	Unité Princ.	sec
Temps-Max	90	Fact. correction	1.00
Temps-Moy	40	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 <input checked="" type="checkbox"/> Agitation		Ecart/moy. Max (%)	5%
		Redilution	Condition
		sec	<
		>	
		ACCEPTATION	
		Min.	Max.
		10	90

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

TESTS		Configuration	
		Calibration	
MODE :	Brut : les résultats sont rendus en unités de mesure sec	Détermination	
		<input type="checkbox"/> DOUBLE <input checked="" type="checkbox"/> SIMPLE	

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

TESTS		Configuration	
		Edition/Trans.	
PARAMETRES			
	Unité	Facteur Convers.	Edition
Princ.	Sec		<input checked="" type="checkbox"/>
Aux1			<input type="checkbox"/>
Aux2			<input type="checkbox"/>
Aux3			<input type="checkbox"/>
		Rang Transmission	Valeurs Usuelles
		0	Min. Max.
			10 90
LIMITES D'EDITION			
Min.	10	Max.	90

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

Le STA-R offre la possibilité de gérer 3 niveaux différents de contrôles de qualité. A titre d'exemple, la configuration suivante est possible. Il est recommandé de passer au minimum 1 contrôle qualité.

TESTS							Configuration
							C.Q.
NIVEAU 1							
	Id.	Clé	Nom	Stab. h	Flac. ml	Vol. Min. ml	
Contrôle	BNC		BN CONT	8	1	0.2	
NIVEAU 2							
	Id.	Clé	Nom	Stab. h	Flac. ml	Vol. Min. ml	
Contrôle	VL AB		VL AB CONT	8	1	0.2	
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							