



Manufactured By: HYPHEN BioMed

## Assay of FII, FV, FVII, FX by clotting assay on STA-R

PT based assay, using a deficient plasma for the tested factor as substrate, in which all the other factors are present and in excess. The measured factor, present in the tested plasma, is then the limiting factor.

### 1. Reconstitution of the reagents:

NAME	Reconstitution	Stability	Stabilization at the room Temperature
Deficient Plasma : FII : ADP010A/K Or FV : ADP020A/K Or FVII : ADP030A/K Or FX : ADP060A/K	1ml distilled water (*)	8 hours at room T° (18-25°C) 24hours at 2-8 °C	30 mn before any use (**)

#### **Reagents required but not provided:**

- Distilled Water;
- Owren Koller buffer (ex: # AAR003A/AAR003K).
- Normal pool human plasma or Factor II or V or VII or X calibrator (ex: BIOPHEN Plasma Calibrator - # A222101).
- Normal and Abnormal quality control plasmas, titrated for Factor II or V or VII or X (ex: BIOPHEN Normal Control Plasma - #A223201 and BIOPHEN Abnormal Control Plasma #A223301).
- Calcium Thromboplastin (such as rabbit brain thromboplastin).

Reconstitution: (\*) Following reconstitution with distilled water, let the reagents to stabilize for 15 minutes at room temperature.

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.

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

Note : Homogenize the reagents before each use.

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

## 2. Calibration and controls

Ex:

NAME	Reconstitution	Stability	Stabilization in T°
<b><u>Calibration:</u></b> BIOPHEN Plasma Calibrator ( ref A222101)	1 ml of distilled water (*)	*according to the factor, refer insert	30 minutes <i>on STA board</i> before any use (**)
<b><u>Quality control:</u></b> Biophen Normal Control (ref A223201)	1 ml of distilled water (*)	*according to the factor, refer insert	30 minutes <i>on STA board</i> before any use (**)
<b><u>Quality control:</u></b> Biophen Abnormal Control (ref A223301)	1 ml of distilled water (*)	*according to the factor, refer insert	30 minutes <i>on STA board</i> before any use (**)

**Reconstitution:** (\*) Following reconstitution of calibrators and controls, let them to stabilize for 30 minutes at room temperature.

**Storage 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.

Homogeneize before each use.

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

**Foot-note:** A new calibration curve must be carried out for each new batch of reagents, after an important maintenance of the instrument, or if measured values for controls are not in compliance with the one expected.

**NOTE :** It is recommended to perform a fresh calibration curve, patient's plasmas and controls successively without interruption for optimal performances.

**Samples are loaded undiluted on the instrument; the dilutions are managed by the STAR.**

## 3. Results:

- The calibration curve is of the Log (CT, in sec) - Log (concentration, in % ) type.
- The values obtained for the patients and controls, tested at the standard 1:10 dilution, are directly calculated from the calibration curve, and are expressed in %.

**NOTE:** Clotting times and performances may present variations according to the thromboplastin reagent type and lot, the instrument used, and to the clot detection sensitivity adjustment. Validate the expected values in the laboratory working conditions. Performances, as well as target values and acceptance ranges 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 analyzer:

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

TESTS		Configuration						
<b>Method</b>								
IDENTIFICATION								
Abbreviation		PT DEF		Last up date				
Name		PT deficient		Method		CLOT-BASED		
SAMPLE			DILUENT					
Vol. µl	Incu.	Dilution	Id.	Name			Stab. h	Min Vol
50 µl	0 sec	1/10	OK	OWREN KOLLER			72	1.5
REAGENTS								
	Id.	Name		Stab. h	Vol. µl	Incu. sec	Prec	Continued
Ra	DEF	Deficient plasma		8	50	60	<input type="checkbox"/>	
Rb							<input type="checkbox"/>	
Rc							<input type="checkbox"/>	
Rd	THR	Calcium Thromboplastin		*	100			

Enter data concerning washing

	Id.	Name	Stab. h	Vol. µl	Incu. sec	Prec.	Vial. ml	Min Vol ml
Diluent	OK	OWREN KOLLER	72				25	1.5
Ra	DEF	Deficient plasma	8	50	60	<input type="checkbox"/>	1	0.2
Rb								
Rc						<input type="checkbox"/>		
Rd	THR	Calcium Thromboplastin	*	100			*	*
<b>Washing</b>								
	<b>Ra</b>	<b>Rb</b>	<b>Rc</b>	<b>Rd</b>				
Before	No				No			
After	Special				intensive			
Wash	12227							
Name	DESORB U							
Stab. H	120							
Vial ml	15							
Vol in. ml	0.90							

\*according to the reagent used

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

TESTS		Configuration							
		<b>I. Result</b>							
METHOD		RESULT							
CLOTTING TIME									
Min. Time	5	Primary Units.	%						
Max Time	250	Correction Fact	1.00						
Mean Time	25	Single/Duplicate							
Clot	<input checked="" type="radio"/> Normal	<input checked="" type="radio"/> Single							
	<input type="radio"/> weak	<input type="radio"/> Duplicate							
	<input type="radio"/> Mean								
<input checked="" type="checkbox"/> Rd Heating		Precision (%)	5.00						
<input checked="" type="checkbox"/> Stirring		Redilution	Condition						
		1/	<						
			>						
		<table border="1"> <thead> <tr> <th colspan="2">Validation</th> </tr> <tr> <th>Min.</th> <th>Max.</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0</td> <td>150</td> </tr> </tbody> </table>		Validation		Min.	Max.	0	150
Validation									
Min.	Max.								
0	150								

Write calibration data: Click on window Calibration for enter following data:

TESTS		Configuration				
		<b>Calibration</b>				
MODE :		LINEAR	Determination			
			<input checked="" type="checkbox"/> DUPLICATE <input type="checkbox"/> SINGLE			
SCALE		Concentrations : <input checked="" type="checkbox"/> LOG				
Raw Data : <input type="checkbox"/> LINEAR <input checked="" type="checkbox"/> LOG		<input type="checkbox"/> LIN <input type="checkbox"/> INVERSE				
	Id.	Key	Name	Stab. H	Dilution	continued
Calib Plasma 1	CAL		CAL	*	1/10	
Calib Plasma 2	CAL		CAL	*	1/20	
Calib Plasma 3	CAL		CAL	*	1/40	
Calib Plasma 4	CAL		CAL	*	1/80	
Calib Plasma 5	CAL		CAL	*	1/160	
Ctrl, Niv. 1						
Ctrl, Niv. 2						

\* according to the calibrator used. Must be stirred and stabilized before each use

Click on window **Printout/Transmission** and enter following data:

TESTS						Configuration	
					<b>Printout/Trans.</b>		
<b>PARAMETERS</b>							
	<b>Units</b>	<b>Convers Factor</b>	<b>Print</b>	<b>Transmission Test Number</b>	<b>Usual Values</b>		
					<b>Min.</b>	<b>Max.</b>	
<b>Main</b>	%		<input checked="" type="checkbox"/>	<b>0</b>			
<b>Aux1</b>	sec		<input checked="" type="checkbox"/>	<b>0</b>			
<b>Aux2</b>			<input type="checkbox"/>				
<b>Aux3</b>			<input type="checkbox"/>				
<b>Printout limits</b>							
<b>Min.</b>	<input type="text" value="0"/>	<b>Max.</b>	<input type="text" value="150"/>				

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

TESTS						Configuration	
					<b>Q.C</b>		
<b>LEVEL 1</b>							
	<b>Id.</b>	<b>Key</b>	<b>Name</b>	<b>Stab. h</b>	<b>Vial. ml</b>	<b>Min Vol ml</b>	
<b>Control</b>	BNC		BN CONT	*	1*	0.2*	
<b>LEVEL 2</b>							
	<b>Id.</b>	<b>Key</b>	<b>Name</b>	<b>Stab. h</b>	<b>Vial. ml</b>	<b>Min Vol ml</b>	
<b>Control</b>	VLAB		VLAB CONT	*	1*	0.2*	
<b>LEVEL 3</b>							
	<b>Id.</b>	<b>Key</b>	<b>Name</b>	<b>Stab. h</b>	<b>Vial. ml</b>	<b>Min Vol ml</b>	
<b>Control</b>							
<b>Period:</b>	<input type="text"/>	<b>hours</b>	<input type="text"/>	<input type="checkbox"/> <b>Tests</b>		<input type="checkbox"/> <b>Vial</b>	

\* Must be stirred and stabilized before each use

\* To be filled according to the controls used.

## Dosage des facteurs II, V, VII, X par méthode chromométrique sur STA-R

Méthode basée sur le TP, en utilisant un plasma substrat déficient dans le facteur à tester, apportant tous les autres facteurs en quantité constante et en excès. Le facteur à doser, apporté par le plasma à tester, est alors le facteur limitant.

### I. RECONSTITUTION DES REACTIFS :

Nom	Reconstitution	Stabilité	Stabilisation en T°
Plasma déficient : FII : ADPO10A/K Ou FV : ADPO20A/K Ou FVII : ADPO30A/K Ou FX : ADPO60A/K	1ml d'eau distillée (*)	24 H à 2°- 8°C 8 H à T° ambiante (18-25°C)	30 minutes avant toute utilisation (**)

#### Note : réactifs nécessaires et non fournis :

- Eau distillée;
- Tampon Owren Koller (ex AAR003A/AAR003K).
- Pool de plasma normal ou calibrateur titré en Facteur II ou V ou VII ou X (ex : BIOPHEN Plasma Calibrator - Réf. A222101).
- Plasmas de contrôle de qualité Normal et Anormal titrés en Facteur II ou V ou VII ou X (ex : BIOPHEN Normal Control Plasma - Réf. A223201 et BIOPHEN Abnormal Control Plasma - Réf. A223301).
- Thromboplastine calcique (comme la thromboplastine extraite de cerveau de lapin, par exemple).

Reconstitution : (\*) Après reconstitution en eau distillée, respecter un temps de stabilisation de 15 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 remettez sur l'automate.

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.

**Note : bien homogénéiser les réactifs avant chaque utilisation.**

**Note : Comme tout produit d'origine biologique, les réactifs doivent être manipulés avec toutes les précautions requises pour l'utilisation de produits potentiellement infectés.**

## II. Reconstitution des calibrateurs et des contrôles

Exemple :

Nom	Reconstitution	Stabilité	Stabilisation en T°
<b>CALIBRATEUR</b> <b><u>BIOPHEN Plasma</u></b> <b><u>Calibrator</u></b> <b>(ref A222101)</b>	1 ml d' <u>eau distillée</u> (*)	Selon Facteur, refer notice	<b>30 minutes à bord du STA</b> avant toute utilisation (**)
<b>CONTROLE</b> <b><u>Biophen Normal Control</u></b> <b><u>Plasma</u></b> <b>(réf A223201)</b>	1 ml d' <u>eau distillée</u> (*)	Selon Facteur, refer notice	<b>30 minutes à bord du STA</b> avant toute utilisation (**)
<b>CONTROLE</b> <b><u>Biophen Abnormal</u></b> <b><u>Control Plasma</u></b> <b>(réf A223301)</b>	1 ml d' <u>eau distillée</u> (*)	Selon Facteur, refer notice	<b>30 minutes à bord du STA</b> avant toute utilisation (**)

Reconstitution : (\*) Après reconstitution des plasmas de calibration et de contrôle, respecter un temps de stabilisation de 30 minutes à température ambiante.

Conservation des réactifs : (\*\*) Veiller à bien respecter le temps de stabilisation des calibrateurs et 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 calibrateurs ni les plasmas de contrôle.

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.

Dans la mesure du possible, il est recommandé d'effectuer une gamme de calibration fraîchement reconstituée, et de tester les plasmas et contrôles simultanément, pour une performance optimale du test.

Les échantillons sont chargés purs sur l'instrument ; les dilutions sont gérées par l'automate

## III. RESULTATS

- La courbe de calibration est du type Log (temps de coagulation, en secondes) - Log (concentration, en % de facteur).
- Les valeurs des patients et des contrôles, traités à la dilution standard 1/10, sont directement calculées à partir de la courbe d'étalonnage et les résultats, exprimés en % de Facteur.

NOTA : Les temps obtenus et les performances du test peuvent varier légèrement selon le type, le lot de thromboplastine et l'instrument utilisé, 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 cibles et intervalles de confiance, pour chaque nouveau lot de contrôle de qualité utilisé, doivent, par conséquent, être confirmés (et ajustés 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 :

TESTS				Configuration				
<b>Méthodologie</b>								
IDENTIFICATION								
Abréviation		PT DEF		Dernière MAJ.				
Nom	PT DEFICIENT			Méthode	Chronométrique			
ECHANTILLON			DILUANT					
Vol. µl	Incu.	Dilution	Id.	Nom	Stab. h	Vol Min		
50 µl	0 sec	1/10	OK	OWREN KOLLER	72	1.5		
REACTIFS								
	Id.	Nom		Stab. h	Vol. µl	Incu. sec	Préc.	Suite
Ra	DEF	Deficient plasma		8	50	60	<input type="checkbox"/>	
Rb							<input type="checkbox"/>	
Rc							<input type="checkbox"/>	
Rd	THR	Calcium Thromboplastin		*	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	OK	OWREN KOLLER	72				25	1.5
Ra	DEF	Deficient plasma	8	50	60	<input type="checkbox"/>	1	0.2
Rb						<input type="checkbox"/>		
Rc						<input type="checkbox"/>		
Rd	THR	Calcium Thromboplastin	*	100			*	*
<b>LAVAGE</b>								
	<b>Ra</b>		<b>Rb</b>		<b>Rc</b>		<b>Rd</b>	
Avant	Non		Non				Non	
Après	Special						Intensif	
Nettoyant	12227							
Nom	DESORB U							
Stab. H	120							
Flacon ml	15							
Vol in. ml	0.90							

\*selon réactif utilisé.

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

TESTS		Configuration	
		<b>Résultat</b>	
ANALYSE CHRONOMETRIE		RESULTAT	
Temps Min.	5	Unité Princ.	%
Temps-Max	250	Fact. correction	1.00
Temps-Moy	25	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
		1/	<
		>	
		<b>ACCEPTATION</b>	
		Min.	Max.
		0	150

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

TESTS		Configuration				
		<b>V. Calibration</b>				
MODE :		Linéaire	Détermination			
			<input checked="" type="checkbox"/> DOUBLE <input type="checkbox"/> SIMPLE			
Mesures ECHELLES :	LIN <u>v LOG</u>	Concentrations				
		LIN   INVERSE <u>v LOG</u>				
	Id.	Clé	Nom	Stab. H	Dilution	Suite
	Etalon 1	CAL	CAL	*	1/10	
	Etalon 2	CAL	CAL	*	1/20	
	Etalon 3	CAL	CAL	*	1/40	
	Etalon 4	CAL	CAL	*	1/80	
	Etalon 5	CAL	CAL	*	1/160	
	Ctrl, Niv. 1					
	Ctrl, Niv. 2					

\* Selon le calibrateur utilisé ; Doit être bien homogénéisé avant chaque utilisation

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

TESTS						Configuration	
VI.		<b>Edition/Trans.</b>					
<b>PARAMETRES</b>							
	<b>Unité</b>	<b>Facteur Convers.</b>	<b>Edition</b>	<b>Rang Transmission</b>	<b>Valeurs Usuelles</b>		
					<b>Min.</b>	<b>Max.</b>	
<b>Princ.</b>	%		<input checked="" type="checkbox"/>	<b>0</b>			
<b>Aux1</b>	sec		<input checked="" type="checkbox"/>	<b>0</b>			
<b>Aux2</b>			<input type="checkbox"/>				
<b>Aux3</b>			<input type="checkbox"/>				
<b>LIMITES D'EDITION</b>							
<b>Min.</b>	<input type="text" value="0"/>	<b>Max.</b>	<input type="text" value="150"/>				

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	
						<b>C.Q.</b>	
<b>NIVEAU 1</b>							
	<b>Id.</b>	<b>Clé</b>	<b>Nom</b>	<b>Stab. h</b>	<b>Flac. ml</b>	<b>Vol. Min. ml</b>	
<b>Contrôle</b>	BNC		BN CONT	*	1*	0.2*	
<b>NIVEAU 2</b>							
	<b>Id.</b>	<b>Clé</b>	<b>Nom</b>	<b>Stab. h</b>	<b>Flac. ml</b>	<b>Vol. Min. ml</b>	
<b>Contrôle</b>	VLAB		VLAB CONT	*	1*	0.2*	
<b>NIVEAU 3</b>							
	<b>Id.</b>	<b>Clé</b>	<b>Nom</b>	<b>Stab. h</b>	<b>Flac. ml</b>	<b>Vol. Min. ml</b>	
<b>Contrôle</b>							
<b>Période :</b> <input type="text"/> heures <input type="text"/> <input type="checkbox"/> Tests <input type="checkbox"/> Flacon							

\* Doit être bien homogénéisé avant chaque utilisation

\* A remplir en fonction des contrôles utilisés.