



Assay of FVIII:C or FIX or FXI or FXII by clotting assay on STA-R

APTT 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 : FVIII:C: ADP040A/K Or FIX : ADP050A/K Or FXI: ADP070A/K Or FXII : ADP080A/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;
- Calcium chloride 0.025M (ex AAR001A/AAR001K)
- Owren Koller buffer (ex: # AAR003A/AAR003K).
- Normal pool human plasma or Factor VIII:C or IX (or XI or XII) calibrator (ex: BIOPHEN Plasma Calibrator - # A222101).
- Normal and Abnormal quality control plasmas, titrated for Factor VIII:C or IX (or XI or XII) (ex: BIOPHEN Normal Control Plasma-#A223201 and BIOPHEN Abnormal Control Plasma - #A223301).
- Activated cephalin reagent (ex : CK Prest or Cephén # ACK511K/ACK512K/ACK515K-L).

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

(**) Stability indicated are validated provided any evaporation or contamination of reconstituted reagents are avoided. They must be adjusted according to the actual laboratory working conditions.

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°
Calibration: 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 (**)
Quality control: Biophen Normal Control (ref 223201)	1 ml of distilled water (*)	*according to the factor, refer insert	30 minutes <i>on STA board</i> before any use (**)
Quality control: Biophen Abnormal Control (ref 223301)	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: Quality controls at different levels must be run regularly in each series, 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 slight variations according to the activated cephalin reagent, the reagent lot and 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 reagent or 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		
Method								
IDENTIFICATION								
Abbreviation		aPTT DEF		Last up date				
Name		aPTT deficient		Method		CLOT-BASED		
SAMPLE			DILUENT					
Vol. μ l	Incu.	Dilution	Id.	Name			Stab. h	Min Vol
50 μ l	0 sec	1/10	OK	OWREN KOLLER			72	1.5
REAGENTS								
	Id.	Name		Stab. h	Vol. μ l	Incu. sec	Prec	Continued
Ra	DEF	Deficient plasma		8	50	0	<input type="checkbox"/>	
Rb	CK	Activated cephalin reagent		*	50	240	<input type="checkbox"/>	
Rc							<input type="checkbox"/>	
Rd	CaCl2	Calcium		*	50			

Enter data concerning washing

	Id.	Name		Stab. h	Vol. μ l	Incu. sec	Prec.	Vial. ml	Min Vol ml
Diluent	OK	OWREN KOLLER		72				25	1.5
Ra	DEF	Deficient plasma		8	50	0	<input type="checkbox"/>	1	0.2
Rb	CK	Activated cephalin reagent		*	50	240		*	*
Rc							<input type="checkbox"/>		
Rd	CaCl2	Calcium		*	50			*	*
Washing									
	Ra		Rb		Rc		Rd		
Before	No		No				No		
After	Special		Normal				Normal		
Wash	12227								
Name	DESORB U								
Stab. H	120								
Vial ml	15								
Vol in. ml	0.90								

*according to the reagent used

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

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

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	*	1*	0.2*	
LEVEL 2							
	Id.	Key	Name	Stab. h	Vial. ml	Min Vol ml	
Control	VLAB		VLAB CONT	*	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							

* **Must be stirred and stabilized before each use**

* To be filled according to the controls used.



Fabricant: HYPHEN BioMed

Dosage des facteurs VIII :c ou IX ou XI ou XII par méthode chromométrique sur STA-R

Méthode basée sur le TCA, 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 : FVIII:C: ADP040A/K Ou FIX: ADP050A/K Ou FXI: ADP070A/K Ou FXII: ADP080A/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;
- Chlorure de Calcium 0.025M (ex AAR001A/AAR001K)
- Tampon Owren Koller (ex AAR003A/AAR003K).
- Pool de plasma normal ou calibrateur titré en Facteur VIII :C ou IX (ex : BIOPHEN Plasma Calibrator - Réf. A222101), ou FXI, ou FXII.
- Plasmas de contrôle de qualité Normal et Anormal titrés en Facteur VIII :C ou IX (ex :BIOPHEN Normal Control Plasma - Réf. A223201 et BIOPHEN Abnormal Control Plasma - Réf. A223301), ou FXI, ou FXII.
- Réactif céphaline activée (ex : CK Prest ou Cephen #ACK511K/ACK512K/ACK515K-L)

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.

(*)Les durées de stabilité indiquées sont sous réserve de toute évaporation ou contamination. Elles peuvent être ajustées en fonction des conditions de travail exactes du laboratoire.

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°
CALIBRATEUR <u>BIOPHEN Plasma</u> <u>Calibrator</u> (ref A222101)	1 ml d' <u>eau distillée</u> (*)	Selon Facteur, refer notice	30 minutes à bord du STA avant toute utilisation (**)
CONTROLE <u>Biophen Normal Control</u> <u>Plasma</u> (réf A223201)	1 ml d' <u>eau distillée</u> (*)	Selon Facteur, refer notice	30 minutes à bord du STA avant toute utilisation (**)
CONTROLE <u>Biophen Abnormal</u> <u>Control Plasma</u> (réf A223301)	1 ml d' <u>eau distillée</u> (*)	Selon Facteur, refer notice	30 minutes à bord du STA 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.

Les plasmas de contrôle de qualité, à divers niveaux, doivent être passés régulièrement dans chaque série de dosages ; 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 réactif céphaline activée, le lot de réactif 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 réactif ou 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						
Méthodologie								
IDENTIFICATION								
Abréviation		aPTT DEF		Dernière MAJ.				
Nom		aPTT 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	0	<input type="checkbox"/>	
Rb	CK	Reactif céphaline activée		*	50	240	<input type="checkbox"/>	
Rc							<input type="checkbox"/>	
Rd	CaCl2	Calcium		*	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	OK	OWREN KOLLER	72*				25	1.5
Ra	DEF	Deficient plasma	8*	50	0	<input type="checkbox"/>	1	0.2
Rb	CK	Reactif céphaline activée	*	50	240	<input type="checkbox"/>	*	*
Rc						<input type="checkbox"/>		
Rd	CaCl2	Calcium	*	50			*	*

LAVAGE				
	Ra	Rb	Rc	Rd
Avant	Non	Non		Non
Après	Special	Normal		Normal
Nettoyant	12227			
Nom	DESORB U			
Stab. H	120			
Flacon ml	15			
Vol in. ml	0.90			

*selon réactif utilisé et conditions de travail du laboratoire.

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

TESTS		Configuration	
		Résultat	
ANALYSE CHRONOMETRIE		RESULTAT	
Temps Min.	10	Unité Princ.	%
Temps-Max	250	Fact. correction	1.00
Temps-Moy	60	Détermination	
Caillot	<input checked="" type="radio"/> Normal <input type="radio"/> Faible <input type="radio"/> Moyen	<input checked="" type="radio"/> SIMPLE <input type="radio"/> DOUBLE	
<input checked="" type="checkbox"/> Chauffage Rd <input checked="" type="checkbox"/> Agitation		Ecart/moy. Max (%)	5%
		Redilution	Condition
		1/	<
		>	
		ACCEPTATION	
		Min.	Max.
		0	130

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

TESTS		Configuration	
		V. Calibration	
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
Etalon 2	CAL		CAL
Etalon 3	CAL		CAL
Etalon 4	CAL		CAL
Etalon 5	CAL		CAL
Ctrl, Niv. 1			
Ctrl, Niv. 2			

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

**selon la précision souhaitée, refer notice.

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

TESTS						Configuration		
VI.		Edition/Trans.						
PARAMETRES								
	Unité	Facteur Convers.	Edition	Rang Transmission	Valeurs Usuelles			
					Min.	Max.		
Princ.	%		<input checked="" type="checkbox"/>	0				
Aux1	sec		<input checked="" type="checkbox"/>	0				
Aux2			<input type="checkbox"/>					
Aux3			<input type="checkbox"/>					
LIMITES D'EDITION								
Min.	<input type="text" value="0"/>	Max.	<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	
						C.Q.	
NIVEAU 1							
	Id.	Clé	Nom	Stab. h	Flac. ml	Vol. Min. ml	
Contrôle	BNC		BN CONT	*	1*	0.2*	
NIVEAU 2							
	Id.	Clé	Nom	Stab. h	Flac. ml	Vol. Min. ml	
Contrôle	VLAB		VLAB CONT	*	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

* **Doit être bien homogénéisé avant chaque utilisation**

* **A remplir en fonction des contrôles utilisés.**