

**Quantitative Protein S Clotting Assay**  
**CLOT S™**

**Intended Use**

CRYOcheck Clot S is a clot-based assay intended for the quantitative determination of protein S activity in citrated human plasma.

**Summary and Principle**

Protein S is a vitamin K-dependent glycoprotein with a molecular weight of ~70,000 Da. The mature protein circulates in plasma at a total concentration of 25 µg/mL, 40% free and 60% reversibly bound to C4b-binding protein<sup>1</sup>. The free form of protein S acts as a cofactor to enhance the anticoagulant property of activated protein C, a potent inhibitor of procoagulant factors Va and VIIIa<sup>2</sup>.

Protein S deficiency has both congenital and acquired etiologies of clinical interest. Congenital deficiencies are commonly associated with an increased risk of venous thromboembolic disease<sup>3,4,5</sup>, while acquired abnormalities are associated with anti-vitamin K therapy<sup>6</sup>, liver disease<sup>6</sup>, disseminated intravascular coagulation (DIC)<sup>6</sup>, oral contraceptives<sup>7</sup>, oestrogen therapy<sup>8</sup>, acute phase inflammatory responses<sup>9</sup>, pregnancy<sup>10</sup>, and newborns<sup>11</sup>.

CRYOcheck Clot S initiates the common pathway of coagulation in plasma using a Russell's viper venom (RVV-X) reagent to convert factor X to Xa in the presence of activated protein C (APC), bypassing all factors above the common pathway<sup>12</sup>. When mixed with protein S deficient plasma, samples from patients with a protein S deficiency or dysfunction will have shortened CRYOcheck Clot S clotting times relative to samples with normal levels of functional protein S. The clotting time is proportional to the amount of functional protein S in the patient's plasma and this can be quantified using a calibration curve.

**Reagents**

Protein S Deficient Plasma (PS Deficient)


Contains citrated pooled human plasma (depleted of protein S by immunoabsorption), buffers and stabilizers.

Clot S Activator (Activator)

Contains activated protein C, Russell's viper venom, heparin neutralizing agents, buffers and stabilizers.

C & S Diluent

Available separately from Precision BioLogic (catalog # CSD).

 *All blood products should be treated as potentially infectious. Source material from which this product was derived was found to be negative when tested in accordance with current FDA required tests. No known test methods can offer assurance that products derived from human blood will not transmit infectious agents. Accordingly, these human blood based products should be handled and discarded as recommended for any potentially infectious human specimen<sup>13</sup>.*

Storage, Preparation and Handling

When stored at -70°C or below, CRYOcheck Clot S is stable to the end of the month indicated on the product packaging.

Thaw one vial each of **PS Deficient** and **Activator** at 37°C (± 1°C) in a waterbath using the “floatie” thawing device (provided separately). Thawing times are important and should be strictly adhered to. The use of a timer is recommended. Refer to the Thawing Table for recommended thawing times according to format.

Thawing Table	
Aliquot Size	37°C (±1°C) Waterbath
3.0 mL	6 minutes
1.5 mL	5 minutes

Immediately after thawing:

- vortex or vigorously mix **PS Deficient** only for 5 - 10 seconds
- add a stir bar to **PS Deficient** only (stir bar size: 5 - 8 mm x 1.5 - 2.0 mm)
- gently swirl **Activator** for 5 - 10 seconds
- allow uncapped re agents to acclimate on-board the instrument for **30 minutes**

For manual methods, swirl **PS Deficient** prior to performing tests and every two hours thereafter.

CRYOcheck Clot S may be used for up to five hours after preparation. When not in use, CRYOcheck Clot S reagents should be capped in the original vials and maintained at 2 to 8 C. Before use, repeat steps 1 to 4.

***NB:** CRYOcheck Clot S Protein S Deficient Plasma and Clot S Activator are lot specific and should not be interchanged with other lot numbers.*

Availability

Product	Catalog #	Format	# of Tests
<b>Clot S</b>	CCS-30	PS Deficient Activator 5 x 3.0 mL 5 x 3.0 mL	300
	CCS-15	PS Deficient Activator 5 x 1.5 mL 5 x 1.5 mL	150

**Instruments**

Each lab should prepare the local instrument in accordance with the manufacturer's instructions for use.

**Procedure**

Materials Provided

- Protein S deficient Plasma (**PS deficient**)
- Clot S activator (**Activator**)

Materials Required but not Provided

- C & S Diluent
- 0.025 M CaCl<sub>2</sub>
- Waterbath capable of maintaining 37°C (± 1°C)
- Floatie for thawing vials in waterbath
- Coagulation instrument or assay system
- Calibration plasma (e.g. CRYOcheck Normal Reference Plasma)
- Quality control material (e.g. CRYOcheck Reference Control Normal, CRYOcheck Abnormal 1 Reference Control, CRYOcheck Abnormal 2 Reference Control)
- Graph paper
- Plastic test tubes (e.g. 12 x 75 mm)
- Coagulation reaction cuvettes
- Plastic disposable pipettes
- Volumetric pipette
- Timer

Specimen Collection and Preparation

Patient samples should be collected into 105 - 109 mmol/L sodium citrate dihydrate anticoagulant (3.2%) in a ratio of 9 parts blood to 1 part anticoagulant. Patient plasma is derived by centrifugation at 1,500 x g for 15 minutes in order to achieve platelet-poor plasma (<10,000 platelets/µL) and should be tested within four hours of collection when maintained at 2 to 4 C. If samples are not to be tested within four hours then plasma should be removed from the cells and frozen at -20 C for up to two weeks or -70 C for up to six months in accordance with the Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) guidelines<sup>14</sup>.

Assay Procedure

- Prepare CRYOcheck Clot S reagents according to Storage, Preparation and Handling instructions above.
- Prepare instrument according to the manufacturer's instructions for use.
- Prepare a 1:10 dilution of test plasma (i.e. patient, calibrator or control) in C & S Diluent (**do not substitute distilled water or other buffers for C & S Diluent**).
- To a coagulation reaction cuvette, immediately add 50 µL of the diluted test plasma, 50 µL of PS Deficient and 50 µL of Activator.
- Mix and incubate at 37°C for three minutes.
- Add 50 µL 0.025 M CaCl<sub>2</sub> and immediately initiate timer.
- Record clotting time in seconds.

Assay Calibration

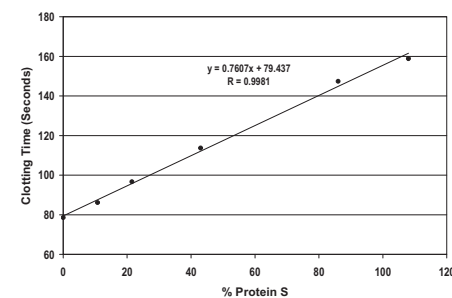
- Prepare CRYOcheck Clot S reagents according to Storage, Preparation and Handling instructions above.
- Prepare calibration plasma according to manufacturer's directions.
- Prepare serial dilutions of calibration plasma from 1:7 to 1:80 in C & S Diluent according to the following table:

Tube No.	C & S Diluent (mL)	Calibration Plasma (mL)	Dilution	% Protein S
1	0.6	0.1	1:7	143
2	1.8	0.2	1:10	100
3	1.0	1.0 of Tube No. 2	1:20	50
4	1.0	1.0 of Tube No. 3	1:40	25
5	1.0	1.0 of Tube No. 4	1:80	12.5
6	1.0	0	n/a	0

*Note: This is an **example only** of a serial dilution profile prepared using calibration plasma with a protein S level of 100%. Always be sure to utilize the lot-specific % protein S level of the calibration plasma in use. If using CRYOcheck Normal Reference Plasma, refer to the lot-specific Assay Certificate.*

- To a coagulation reaction cuvette, add 50 µL from Tube 1, 50 µL of PS Deficient, and 50 µL of Activator. Mix and incubate at 37°C for three minutes.
- Add 50 µL 0.025 M CaCl<sub>2</sub> and immediately initiate timer. Record clotting time in seconds.
- Repeat steps 4 and 5 for Tubes 2 through 6.
- Plot clotting times in seconds (y-axis) vs. % of protein S activity (x-axis).
- Construct a standard curve and derive % protein S values (see Example Only: CRYOcheck Clot S Calibration Curve). It is recommended that samples exceeding 140% protein S be diluted at 1:20 and re-tested. Samples below 10% protein S should be diluted at 1:5 and re-tested.

Example Only: CRYOcheck Clot S Calibration Curve



Quality Control

Each laboratory should establish its own quality control (QC) ranges using acceptable statistical methods. These QC ranges may then be used to monitor and validate the integrity of the testing system<sup>15</sup>. For all coagulation tests, the laboratory must include at least two levels of control for every eight hours of operation and any time a change in reagents occurs<sup>16</sup>.

**Results**

Results are expressed as a percentage of normal protein S activity by comparison with a known standard or calibration plasma. Protein S values recovered below the laboratory established normal range may be indicative of a protein S deficiency (congenital or acquired). Each laboratory should establish its own normal reference range for protein S activity in accordance with CLSI guidelines<sup>17</sup>.

**Limitations of the Procedure**

Factor VIII:c Interference: CRYOcheck Clot S is unaffected by factor VIII:c activity up to 600%.

Heparin Interference: CRYOcheck Clot S is unaffected by unfractionated heparin (UFH) or by low molecular weight heparin (LMWH) up to 1.0 IU/mL.

Direct Thrombin Inhibitors: CRYOcheck Clot S may be affected by hirudin and other direct thrombin inhibitors, resulting in falsely elevated protein S activity levels.

Lupus Anticoagulant: Lupus anticoagulants (LA) present in test plasma may affect CRYOcheck Clot S results.

Activated Protein C Resistance: CRYOcheck Clot S results may be affected by samples from patients with the factor V<sub>Leiden</sub> mutation.

**Expected Values**

A normal population study was performed on 100 healthy adults. A mean protein S level of 90.3% with a two standard deviation (SD) range of 46.7% – 133.9% was recovered. It is recommended that each laboratory establish its own normal population range.

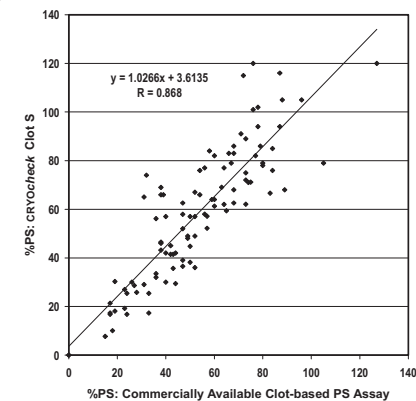
**Performance Characteristics**

Reportable Range: A reportable range for CRYOcheck Clot S of 10 to 140% protein S activity was obtained on a STA-R® instrument (Diagnostica Stago). Reportable range may vary depending on instrumentation used.

Precision: Intra-assay reproducibility was assessed by testing one normal and one abnormal plasma (with reduced % protein S) 20 times each. To evaluate inter-assay precision, one normal sample and one abnormal sample were tested over multiple days, using multiple calibration curves. Mean, SD, and percent coefficient of variation (%CV) were as follows:

Test Sample	Intra-Assay Precision			Inter-Assay Precision		
	Mean	SD	%CV	Mean	SD	%CV
Normal	90.5	2.1	2.3	101.6	6.8	6.7
Abnormal	26.3	1.9	7.2	34.9	2.8	7.9

Correlation: CRYOcheck Clot S was compared to another commercially available clot-based protein S test, using clinical samples from the assay target population.



**Figure 1:** Correlation of protein S values determined on 100 samples from the target population.

**Bibliography / Bibliographie**

- Stenflo J, Jönsson M. Protein S, a new vitamin K-dependent protein from bovine plasma. FEBS Lett 1979; 101:377-381.
- Marlar RA, Kleiss AJ, Griffin JH. Human Protein C: inactivation of factor V and VIII in plasma by the activated molecule. Ann NY Acad Sci. 1981; 370:303-310.
- Comp PC, Esmon CT. Recurrent venous thromboembolism in patients with a partial deficiency of Protein S. New Engl J Med 1984; 311:1525-1528.
- Schwarz HP, Fischer M, Hopmeier P, Batard MA, Griffin JH. Plasma protein S deficiency in familial thrombotic disease. Blood 1984; 64:1297-1300.
- Kosch A, Junker R, Wermes C, Nowak-Gottl U. Recurrent pulmonary embolism in a 13-year-old male homozygous for the prothrombin G20210A mutation combined with protein S deficiency and increased lipoprotein (a). Thromb Res 2002; 105(1):49-53.
- D'Angelo A, Vigano-D'Angelo S, Esmon CT, Comp PC. Acquired deficiencies of protein S. Protein S activity during oral anticoagulation, in liver disease, and in disseminated intravascular coagulation. J Clin Invest 1988; 81:1445-1454.
- Boerger LM, Morris PC, Thurnau GR, Esmon CT, Comp PC. Oral contraceptives and gender affect Protein S status. Blood 1987; 69(2):692-694.
- Melissari E, Kakkar VV. The effects of oestrogen administration on the plasma free protein S and C4b-binding protein. Thromb Res 1988; 49(5):489-495.
- Garcia de Frutos P, Alim RI, Hardig Y, Zoller B, Dählback B. Differentialregulation of alpha and beta chains of C4b-binding protein during acute-phase response resulting in stable plasma levels of free anticoagulant protein S. Blood 1994; 84(3):815-822.
- Comp PC, Thurnau GR, Welsh J, Esmon CT. Functional and immunologic protein S levels are decreased during pregnancy. Blood 1986; 68(4):881-885.
- Fernandez JA, Estelles A, Gilabert J, Espana F, Aznar J. Functional and immunologic protein S in normal pregnant women and in full-term newborns. Thromb Haemost 1989; 61(3):474-478.
- Kisiel W, Hermodson MA, Davie EW. Factor X activating enzyme from Russell's viper venom: isolation and characterization. Biochemistry 1996; 15(22):4901-4906.
- Biosafety in microbiological and biomedical laboratories 4<sup>th</sup> ed. Centers for Disease Control and Prevention / National Institutes of Health, 1999.
- Collection, transport, and processing of blood specimens for testing plasmabased coagulation assays; Approved Guideline, CLSI, H21-A4, 23(35). 2003.
- Cembrowski GS, Carey RN. Laboratory Quality Management. ASCP Press 1989; 166-172.
- CLIA 1998 – Code of Federal Regulations, 42CFR493.1253, 1998.
- How to define and determine reference intervals in the clinical laboratory; Approved Guideline – Second Edition, CLSI, C28-A2, 2000.

**Limites de la Méthode**

**Interférence liée au facteur VIIIc**: Le *CRYOcheck* Clot S n'est pas affecté par un taux de facteur VIIIc activité jusqu'à 600%.

**Interférence liée aux héparines**: Le *CRYOcheck* Clot S n'est pas affecté par un taux d’HNF ou d’HBPm jusqu'à 1.0 UI/mL.

**Interférence liée aux inhibiteurs de la thrombine**: Le *CRYOcheck* Clot S peut être affecté par l’hirudine ou d’autres inhibiteurs de la thrombine et rendre alors des valeurs faussement élevées de protéine S activité.

**Interférence liée aux lupus anticoagulants**: Le *CRYOcheck* Clot S peut être affecté par les lupus anticoagulants (LA) présent dans les plasmas.

**Interférence liée à la résistance à la protéine C activée (RPCA)**: Le *CRYOcheck* Clot S peut être affecté par des patients portant une mutation de type V Leiden.

**Valeurs Attendues**

Une étude de la population normale a été effectuée sur 100 donneurs sains. La moyenne des taux mesurés de protéine S activité a été de 90.3% avec un recouvrement de deux déviations standards (DS) entre 46.7% et 133.9%. Il est recommandé à chaque laboratoire d’établir ses propres normaux.

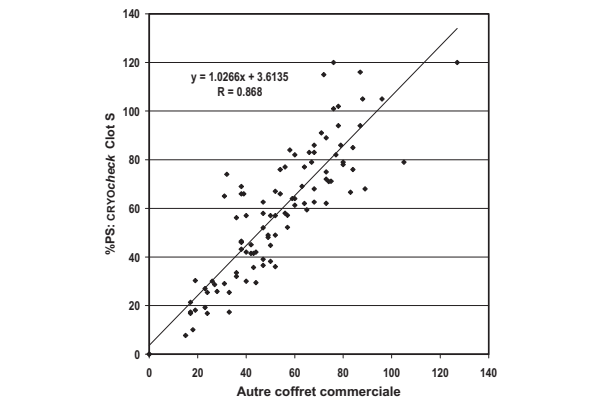
**Performances**

**Gamme de mesure**: de 10 à 140% de protéine S testé sur STA-R® (Diagnostica Stago). La linéarité peut dépendre de l’instrument utilisé.

**Précision**: la reproductibilité intra-essai a été effectuée en dosant un plasma normal et 1 plasma pathologique 20 fois de suite. Pour évaluer la reproductibilité inter-essai, un plasma normal et un plasma pathologique ont été testés sur de multiples jours, en utilisant de multiples courbes de calibration et de multiples opérateurs.

	Précision Intra-essai			Précision Inter-essai		
Plasma	Moyenne	DS	%CV	Moyenne	DS	%CV
Normal	90.5	2.1	2.3	101.6	6.8	6.7
Pathologique	26.3	1.9	7.2	34.9	2.8	7.9

**Corrélation**: Le *CRYOcheck* Clot S a été comparé à d’autres coffrets commerciaux de PS basés sur une détection chromométrique dans trois laboratoires distincts avec des populations différentes.



**Figure 1**: Corrélation de valeurs de protéine S déterminées sur 100 échantillons d’une population ciblée.

- Préparer une dilution au 1/10<sup>ème</sup> des plasmas échantillons, standards et contrôles dans le tampon de dilution (C & S Diluent). Ne pas substituer un autre tampon ou de l’eau distillée au tampon de dilution **C & S Diluent**.
- Dans une cuvette de réaction, ajouter 50 µL de plasma, 50 µL de **PS Deficient** et 50 µL d’**Activator**.
- Mélanger et incuber à 37°C durant trois minutes.
- Ajouter 50 µL de CaCl<sub>2</sub> préchauffé et simultanément commencer la mesure du temps de coagulation.
- Enregistrer ce temps en secondes.

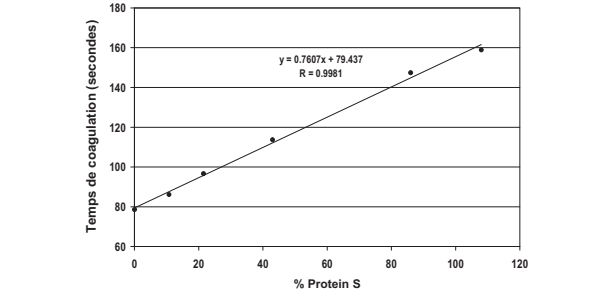
**Procédure de calibration**

- Préparer les réactifs *CRYOcheck* Clot S selon le paragraphe *Conservation et préparation du réactif*.
- Préparer le plasma standard selon les recommandations du fabricant.
- Préparer une dilution en série du 1/7<sup>ème</sup> au 1/80<sup>ème</sup> du plasma standard dans le tampon de dilution (C & S Diluent) selon le tableau suivant:

Tube No.	C & S Diluent (mL)	Plasma Standard (mL)	Dilution	% Protéine S
1	0.6	0.1	1:7	143
2	1.8	0.2	1:10	100
3	1.0	1.0 du Tube No. 2	1:20	50
4	1.0	1.0 du Tube No. 3	1:40	25
5	1.0	1.0 du Tube No. 4	1:80	12.5
6	1.0	0	n/a	0

*Note: Ceci n'est qu'un exemple d'une série de dilutions préparées à partir d'un standard tiré à 100% en protéine S. Utilisez le titre exact indiqué sur le certificat d'analyse du fabricant.*

- Dans une cuvette de réaction, ajouter 50 L de plasma dilué, 50 µL de PS Deficient et 50 µL d’Activator pour le tube 1. Mélanger et incuber à 37°C (±1°C) durant trois minutes.
- Ajouter 50 µL de CaCl<sub>2</sub> 0.025M préchauffé et simultanément commencer la mesure du temps de coagulation. Enregistrer ce temps en secondes.
- Répéter l’étape 4 à 5 pour les tubes 2 à 6.
- Sur un papier graphique linéaire-linéaire, reporter les temps en secondes sur l’axe des y et le % d’activité de la protéine S sur l’axe des x.
- Tracer la droite d’étalonnage % protéine S en fonction du temps en secondes. Il est recommandé de diluer au 1/20<sup>ème</sup> les échantillons excédant 140% et de diluer au 1/5<sup>ème</sup> les échantillons inférieur à 10% et de les re-tester.



#### Contrôle de qualité

Chaque laboratoire doit établir ses propres normes de contrôle qualité en utilisant des méthodes statistiques acceptables. Ces normes doivent être utilisées afin de contrôler et de valider l’intégrité des systèmes de test<sup>15</sup>. Pour tous les tests de coagulation, le laboratoire doit inclure au moins deux niveaux de contrôle toutes les huit heures et en aucun cas, un changement de réactifs ne doit intervenir<sup>16</sup>.

**Résultats**

Les résultats sont exprimés en pourcentage d’activité de la protéine S en comparaison avec un standard connu et titré. Les valeurs de protéine S trouvées par le laboratoire en dessous des valeurs normales peuvent être indicatives d’une anomalie de la protéine S (congénitale ou acquise). Chaque laboratoire devra déterminer ses propres valeurs normales pour ce test en accord avec les instructions du CLSI<sup>17</sup>.

Immédiatement après la décongélation:

- vortexer ou agiter vigoureusement le flacon **PS Deficient** entre 5 et 10 secondes
- un barreau agitateur (5 - 8 mm x 1.5 - 2.0 mm) est nécessaire pour le flacon **PS Deficient**, lorsqu’il est placé à bord d’un automate
- agiter doucement et uniquement le flacon d’**Activator** entre 5 et 10 secondes
- laisser ensuite les réactifs décongelés se stabiliser à température ambiante (18 à 25°C) pendant **30 minutes**

En cas d’utilisation d’une méthode manuelle, agiter le flacon avant chaque utilisation et chaque deux heures.

Les *CRYOcheck* Clot S doit être utilisé dans les cinq heures suivant la décongélation S'ils ne sont pas utilisés, les réactifs décongelés doivent être rebouchés dans leur flacon d’origine et maintenus à 2 à 8°C. Avant utilisation, laisser ensuite les réactifs décongelés se stabiliser à température ambiante (18 à 25°C), et répéter étapes 1 à 4.

***NB**: Les flacons du CRYOcheck Clot S sont spécifiques et ne doivent pas être interchangeés avec d'autres lots.*

Produit	Référence	Présentation	Nombre de tests
<b>Clot S</b>	CCS-30	PS déficient Activator 5 x 3.0 ml	300
	CCS-15	PS déficient Activator 5 x 1.5 ml	150

**Instruments**  
Chaque laboratoire doit préparer les instruments nécessaires stipulés dans les instructions du fabricant.

**Procédure**

**Matériels fournis**

- Protein S Deficient Plasma (**PS Deficient**)
- Clot S Activator (**Activator**)

**Matériels requis mais non fournis**

- Bain-marie à 37°C (±1°C)
- C & S Diluent
- 0.025 M CaCl<sub>2</sub>
- Instrument de coagulation ou système de dosage
- Plasma standard (calibration) (ex. *CRYOcheck* Normal Reference Plasma)
- Matériel de contrôle qualité (ex. *CRYOcheck* Reference Control Normal, *CRYOcheck* Abnormal 1 Reference Control, *CRYOcheck* Abnormal 2 Reference Control)
- Tubes plastiques
- Pipettes plastiques et micro-pipette
- Chronomètre
- Papier graphique linéaire-linéaire

**Prélèvement et préparation**

Les prélèvements du sang de patients doivent être collectés sur une solution anticoagulante de citrate trisodique (3.2%) de concentration 105 - 109 mmol/l dans un ratio de 9 volumes de sang pour 1 volume d’anticoagulant. Le plasma de patient est obtenu par centrifugation à 1500 x g pendant 15 minutes afin d’obtenir un plasma pauvre en plaquette (<10000 plaquettes/µL) et débarrassé des éléments cellulaires. Il doit être testé dans les quatre heures après le prélèvement quand il est maintenu à 2 à 8°C. Si les échantillons ne sont pas testés dans les quatre heures, les plasmas devront être congelés à -20°C jusqu’à deux semaines ou à -70°C jusqu'à six mois comme convenu dans les instructions du CLSI<sup>14</sup>.

**Description du dosage**

La méthode peut varier selon les instruments utilisés.

- Préparer les réactifs *CRYOcheck* Clot S selon le paragraphe *Conservation et préparation du réactif*.
- Préparer l’instrument selon les recommandations du fabricant.

**CRYOcheck**<sup>™</sup>

**CLOT S**<sup>™</sup>

**Dosage Chromométrique de la Protéine S Fonctionnelle**

**Intérêt du Coffret**

*CRYOcheck* Clot S est un coffret permettant de mesurer quantitativement la protéine S fonctionnelle dans le plasma humain citrate par méthode coagulante.

**Résumé et Principe**

La protéine S est glycoprotéine vitamine K dépendante d’un poids moléculaire d’environ 70 000 Da. La protéine mature circule dans le plasma à la concentration de 25 µg/mL, 40% sous forme libre et 60% sous forme liée de façon réversible à la C4bBP<sup>1</sup>. La forme libre de la protéine S agit comme un cofacteur en augmentant les propriétés anticoagulantes de la protéine C activée qui agit comme un inhibiteur puissant des facteurs pro-coagulants Va et VIIIa<sup>2</sup>.

Les déficits en protéine S peuvent être congénitaux ou acquis. Les déficits congénitaux sont couramment associés à une augmentation du risque de thromboses veineuses<sup>3,4</sup> et d’embolismes pulmonaires<sup>5</sup> alors que les déficits acquis sont associés aux traitements par les antivitamines K<sup>6</sup>, aux atteintes hépatiques<sup>6</sup>, coagulations intravasculaires disséminées<sup>6</sup> (CIVD), contraception orale<sup>7</sup>, traitement par œstrogène<sup>8</sup>, état inflammatoire aigu<sup>9</sup>, grossesse<sup>10</sup> et nouveaux-nés<sup>11</sup>.

Le *CRYOcheck* Clot S active la coagulation en activant, par un venin de vipère Russel (RVV-X), le facteur X en facteur Xa en présence de protéine C activée et élimine ainsi l’influence des autres facteurs de la voie endogène<sup>12</sup>. Les patients ayant une déficience ou une dysfonction de la protéine S auront des temps de coagulation raccourcis comparés à des patients ayant une protéine S fonctionnelle normale. Le temps de coagulation est proportionnel à la quantité de protéine S fonctionnelle de chaque plasma de patient et celle-ci peut être quantifiée en utilisant une courbe de calibration.

**Réactifs**

**Protein S Deficient Plasma (PS Deficient)**

Ce plasma contient du plasma normal humain citrate et tamponné qui a été dépourvu en protéine S par immuno-adsorption.

**Clot S Activator (Activator)**

Contient de la protéine C activée, du venin de vipère Russel (RVV-X), un agent neutralisant de l’héparine, des tampons et stabilisants.

**C & S Diluent**

Tampon de dilution, vendu séparément, réf. CSD au catalogue

*Tous les produits sanguins doivent être traités comme potentiellement infectieux. Les matières dont ils dérivent, ont été testées suivants les directives imposées par la FDA. Cependant, aucune méthode connue ne peut offrir l’assurance que les produits dérivés du sang humain ne transmettent pas d’agents infectieux. En conséquence, ces produits issus de sang humain doivent être manipulés et traités comme préconisés pour tout échantillon potentiellement infectieux<sup>13</sup>.*

**Conservation et préparation du réactif**

Le réactif est stable congelé jusqu’à la date de péremption indiquée sur l’emballage, quand il est stocké au moins à -70°C.

Décongeler un flacon de **PS Deficient** et un flacon d’**Activator** à 37°C (±1°C) dans un bain-marie. **L’utilisation d’un bain sec ou d’un bloc chauffant pour la décongélation n’est pas recommandée**. Les temps de décongélation sont importants et doivent être rigoureusement respectés, un chronomètre est nécessaire. Se référer aux tables de décongélation basées sur le format des flacons.

Table de Décongélation	
Taille de l’aliquote	Bain-marie à 37°C (±1°C)
3.0 ml	6 minutes
1.5 ml	5 minutes