

GEBRAUCHSANWEISUNG

Kontroll-Lösung für monoklonale Testseren

REF 05.147.10

ZWECKBESTIMMUNG

Ein fragliches positives Testresultat mit einem monoklonalen Testserum kann möglicherweise durch Autoimmunantikörper, Protein-Anomalien, Geldrollenbildung oder einem positiven DCT hervorgerufen werden. Bei jeder Austestung mit monoklonalen Testseren sollte deshalb eine Kontrolle mit Kontroll-Lösung mitgeführt werden, um zu beweisen, dass eine positive Reaktion eindeutig durch den spezifischen Antikörper ausgelöst wurde. Die beschriebenen Verfahren gelten für die aufgeführten manuellen Methoden und für die Anwendung mit Ortho BioVue® Reverse Diluent Kassetten auf den Automaten ORTHO VISION™ Analyzer und ORTHO AutoVue® Innova. Die Anwendung dieser Kontroll-Lösung ist nur für qualifiziertes und geschultes Fachpersonal vorgesehen.

PRINZIP DES VERFAHRENS

Kontroll-Lösung für monoklonale Testseren ist ein Kontrollreagenz, das die Bestandteile monoklonaler Testseren außer einem spezifischen Antikörper enthält. Wird die Kontroll-Lösung an Stelle eines monoklonalen Testserums eingesetzt, muss deshalb ein negatives Ergebnis auftreten. Ein positives Ergebnis dieses Kontrollreagenzes mit den zu untersuchenden Erythrozyten in den unterschiedlichen Techniken erfordert deshalb automatisch eine Überprüfung der spezifischen Reaktion der jeweiligen Testseren.

TESTSERUM

Die aufgeführte Kontroll-Lösung wird in folgender Form angeboten:

Kontroll-Lösung für monoklonale Testseren

Die Kontroll-Lösung enthält als Konservierungsmittel <0.1% (w/v) Natriumazid. Die Lösung enthält Natriumchlorid, hochmolekulare Verbindungen und Rinderalbumin.

WARNUNG: Diese Kontroll-Lösung wurde aus biologischem Material hergestellt. Unabhängig davon sollte dieses Produkt wegen nie völlig auszuschließender Gefährdung durch Krankheitserreger als potentiell infektiös angesehen werden. Die Kontroll-Lösung enthält Natriumazid, das toxisch wirken und mit Blei oder Kupfer explosive Salze bilden kann. Bei der Entsorgung mit reichlich Wasser nachspülen. Aus den oben genannten Gründen sollte die Kontroll-Lösung mit angemessener Sorgfalt gehandhabt werden.

LAGERUNG

Bei +2 bis +8 °C (ungeöffnet / angebrochen) lagern, kurzzeitig zur Anwendung auch bei Raumtemperatur (+15 bis +30 °C). Werden die Geräte ORTHO VISION™ Analyzer oder ORTHO AutoVue® Innova eingesetzt, können die Testseren maximal 5 Tage auf dem Gerät verbleiben (+15 bis +30 °C). Grundsätzlich nur bis zum angegebenen Verfallsdatum lagern und anwenden!

HINWEISE

1. Unsachgemäße Lagerung beeinträchtigt die Wirksamkeit des Produkts.
2. Zentrifugieren außerhalb des angegebenen Drehzahl-Bereiches kann zu fehlerhaften Ergebnissen führen.
3. Die beschriebenen Verfahren zur Anwendung gelten nur für die aufgeführten Methoden und Automaten. Werden andere Automaten oder halbautomatische Systeme verwendet, müssen die Laboratorien die Angaben der Gerätehersteller befolgen und Validierungen nach anerkannten Verfahren durchführen.
4. Bei der Anwendung der Kontroll-Lösung sind alle gültigen nationalen Gesetze, Verordnungen und Richtlinien zu beachten, in Deutschland insbesondere die „Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)“ in ihrer gültigen Fassung.

VORBEREITUNG DES TESTSERUMS

Eine Vorbereitung der Kontroll-Lösung ist nicht erforderlich. Das Reagenz wird direkt aus dem Fläschchen entnommen und eingesetzt.

VERFAHRENSWEISE

Nicht im Lieferumfang enthaltene, aber benötigte Materialien bei der:

Objektträgermethode

1. Objektträger
2. Pasteurpipette
3. Rührstäbchen

Röhrchenmethode

1. Teströhrchen, 10 x 75 mm oder 12 x 75 mm
2. Mikroliterpipette für 50 µL/100 µL
3. Zentrifuge
4. Isotonische Kochsalzlösung (0,85 - 0,9% Natriumchlorid)
5. Einweg Pipettenspitzen

Mikrotiterplattenmethode

1. Mikrotiterplatten mit U-Boden, ggf. vorbehandelt
2. Laborzentrifuge, die Mikrotiterplatten(-träger) aufnehmen kann
3. Mikrotiterplatten-träger für Zentrifugen (optional)
4. Mikrotiterplatten-Schüttler
5. Ablesespiegel für Mikrotiterplattentests (optional)
6. Mikroliterpipetten zur Abgabe von 50 µL
7. Isotonische Kochsalzlösung (0,85 - 0,9 % Natriumchlorid)
8. Einweg Pipettenspitzen

Verwendung von Ortho BioVue® Kassetten

1. Ortho BioVue® System Zentrifuge
2. Isotonische Kochsalzlösung (0,85 - 0,9 % Natriumchlorid)
3. Mikroliterpipette zur Abgabe von 10 µL, 40 µL und 50 µL
4. Einweg-Pipettenspitzen
5. Ortho BioVue® System Arbeitsständer
6. Ortho BioVue® Reverse Diluent Kassetten

Testdurchführung

Objektträgertest

1. Nur Erythrozytensediment oder Vollblut verwenden.
2. Auf einen Objektträger je einen Tropfen (ca. 50 µL) der Kontroll-Lösung auftragen.
3. Geben Sie zu jedem Tropfen Kontroll-Lösung auf den Objektträgern mit einer Pasteurpipette einen Tropfen (ca. 50 µL) Erythrozytensediment oder Vollblut.
4. Die Erythrozyten-/ Kontroll-Lösung-Mischungen mit einem Rührstäbchen gut vermischen und ausbreiten (Kreis von ca. 2 cm Durchmesser).
5. Bei leichtem Schwenken des Objektträgers innerhalb einer Minute auf Agglutination prüfen (Reaktionsbeginn nach Sekunden). Ergebnisse protokollieren. Unspezifische Reaktionen können beim Eintrocknen des Reaktionsansatzes bzw. Erwärmen des Objektträgers auftreten.

Röhrchen-Zentrifugationstest

1. Nur 2-5%ige Erythrozytensuspension in isotonischer Kochsalzlösung (ein- bis dreimal gewaschen mit isotonischer Kochsalzlösung) verwenden.
2. In jedes Teströhrchen 100 µL (alternativ je einen Tropfen (ca. 50 µL) der Kontroll-Lösung geben.
3. Geben Sie zu jedem Teströhrchen 100 µL (alternativ je einen Tropfen (ca. 50 µL)) der entsprechenden Erythrozytensuspension.
4. Die Erythrozyten-/Testserenmischungen durch leichtes Schütteln vermischen.
5. Teströhrchen 1-15 Minuten bei Raumtemperatur (+15 bis +30 °C) inkubieren.
6. Teströhrchen 1 Minute bei 2.000 U/min (ca. 800 - 1.000 g) zentrifugieren.
7. Zellen durch vorsichtiges Schütteln vollständig resuspendieren und innerhalb von 3 Minuten makroskopisch auf Agglutination untersuchen. Ergebnisse protokollieren.

Mikrotiterplattentest

1. Herstellen einer 2-5%igen Erythrozytensuspension in isotoner Kochsalzlösung. Falls gewünscht, können die Erythrozyten bis zu drei Mal in isotoner Kochsalzlösung gewaschen werden.
2. Einen Tropfen (ca. 50 µL) der Kontroll-Lösung in die Vertiefung geben.
3. Geben Sie einen Tropfen (ca. 50 µL) der Erythrozytensuspension in jede Testkavität.
4. Mischen Sie die Mikrotiterplatte auf einem Mikrotiterplatten-Schüttler.

HINWEIS:

- Empfohlene Dauer für mechanische Schüttler:
 - (1) Mischen: 10 bis 30 Sekunden bei mittlerer Schüttelstärke;
 - (2) Resuspendieren: 10 bis 30 Sekunden bei mittlerer Schüttelstärke bzw. mit einer Dauer und Geschwindigkeit, die eine vollständige Resuspension des gesamten Zellknopfes erlaubt, ohne die positiven Reaktionen zu zerstören.

5. Zentrifugieren Sie die Platte.

Vorgeschlagene Zentrifugationsdauer: 30 Sekunden bei ca. 400 x g oder so lange, wie erforderlich, um mit der verwendeten Zentrifuge und Mikrotiterplatte die stärkste Reaktion der Antikörper mit den Antigen tragenden Erythrozyten zu erlauben, bei der die Resuspension der Antigen-negativen Erythrozyten noch leicht möglich ist.

HINWEIS:

Die auf die Zell-/Testserenmischung angewandte Zentrifugalkraft sollte die minimale Kraft sein, mit der ein Erythrozytenknopf und ein klarer Überstand erzeugt werden kann. Wegen der großen Zahl der im Handel erhältlichen Zentrifugen kann keine eindeutige Zentrifugationsgeschwindigkeit oder -dauer empfohlen werden, die für alle Konfigurationen ideal wäre. Jedes Labor muss das vorhandene Gerät kalibrieren und testen, wie lange bei einer gegebenen Geschwindigkeit zentrifugiert werden muss, um das gewünschte Ergebnis zu erhalten.

6. Lösen Sie die Erythrozytenknöpfe auf dem Schüttler und positionieren Sie die Platte für das Ablesen.

7. Lesen Sie das Ergebnis ab und protokollieren Sie es.

8. Inkubieren Sie negative oder fragliche Tests für eine Dauer von 5 bis 10 Minuten bei Raumtemperatur (+15 bis +30 °C).

9. Wiederholen Sie die Schritte 5 bis 7 nach der Inkubation bei Raumtemperatur.

HINWEIS: Alle Ansätze sollten unmittelbar nach der Zentrifugation und Resuspension ausgewertet werden.

Manuelle Testmethode in Ortho BioVue® Reverse Diluent Kassetten

Das im Folgenden geschilderte Verfahren gilt ausschließlich für die manuelle Testdurchführung mit Ortho BioVue® Kassetten. Beachten Sie bitte in der Gebrauchsanweisung für Ortho BioVue® Reverse Diluent Kassetten die Abschnitte LAGERUNG, VORSICHTSMAßNAHMEN, PROBENENTNAHME und -VORBEREITUNG, VORBEREITUNG DER TESTSEREN sowie INTERPRETATION DER ERGEBNISSE, und -soweit zutreffend- BEGRENZUNGEN DES VERFAHRENS.

1. Zur Vorbereitung der Kassetten befolgen Sie bitte in der Gebrauchsanweisung für Ortho BioVue® Reverse Diluent Kassetten den Abschnitt „Testdurchführung“ Punkt 1 und 2.
2. Eine 3-5%ige Erythrozytensuspension in isotonischer Kochsalzlösung herstellen. Falls gewünscht, können die Erythrozyten bis zu drei Mal in isotonischer Kochsalzlösung gewaschen werden.
3. Geben Sie 10 µL der 3 bis 5%igen Erythrozytensuspension in die entsprechende Reaktionskammer der Kassette.
4. Geben Sie 40 µL der Kontroll-Lösung in die entsprechenden Reaktionskammern der Kassette dazu. Berühren Sie mit der Pipettenspitze nicht den Rand der Reaktionskammer. Sollte dies dennoch passieren, wechseln Sie bitte die Pipettenspitze, bevor Sie die nächste Reaktionskammer befüllen.
5. Zentrifugieren Sie die Kassette mit der Ortho BioVue® System Zentrifuge.
- HINWEIS:** Die Zentrifugation muss innerhalb von 30 Minuten nach Zugabe der Proben in die Reaktionskammern erfolgen.
6. Nach Beendigung des Tests überprüfen Sie die Vorder- und Rückseite der einzelnen Säulen auf Agglutination und/oder Hämolysen.
7. Die Reaktionsstärke von der Seite mit dem ausgeprägteren positiven Ergebnis aufzeichnen.

Test in Ortho BioVue® Reverse Diluent Kassetten mit den Automaten ORTHO VISION™ Analyzer oder ORTHO AutoVue® Innova

Bitte befolgen Sie die Anweisungen im Benutzerhandbuch des jeweiligen Gerätes.

INTERPRETATION DER TESTERGEBNISSE

"Vorsichtiges Schwenken/ Schütteln" beim Objektträger-Schnelltest und beim Röhrchen-Zentrifugationstest, sowie Mischen der Mikrotiterplatten auf einem Plattenschüttler:

Positives Ergebnis (+): Eine Agglutination der Erythrozyten ist als positives Testergebnis zu werten und zeigt hier eine mögliche Fehlreaktion des monoklonalen Testserums an.
Negatives Ergebnis (-): Das Fehlen einer Agglutination der Erythrozyten ist als negatives Testergebnis zu bewerten. Die spezifische Reaktion des monoklonalen Testserums kann verwendet werden. Eine Fehlreaktion liegt nicht vor.

Kassetten:

Zur Beurteilung der Ergebnisse in Ortho BioVue® Reverse Diluent Kassetten bei der manuellen Methode befolgen Sie bitte den Abschnitt „INTERPRETATION DER ERGEBNISSE“ in der zugehörigen Gebrauchsanweisung. Bei den Automaten erfolgt die Ablesung und Auswertung durch das Gerät.

GRENZEN DER METHODE

- Ungenauigkeiten bei der Einhaltung der Anweisungen in den Abschnitten „Testdurchführung“ und „Interpretation der Testergebnisse“ können zu fehlerhaften Ergebnissen führen.
- Enzymbehandelte Erythrozyten können mit diesem Reagenz unspezifisch reagieren.
- Beachten Sie Angaben zu Grenzen in der Gebrauchsanweisung von eingesetzten Ortho BioVue® Reverse Diluent Kassetten und im Benutzerhandbuch des verwendeten Automaten.

SYMBOL - LEGENDE

	Lagerung von - bis		Artikel- Nummer		Verfalldatum		Hersteller nach 98/79/EG
	Los		Klon(e)		In-vitro- Diagnostikum		EG CE-Symbol

 Antitoxin GmbH, Industriestraße 88, 69245 Bammental

730-22-3010 Version 010 / 30. Mrz 2015



In vitro diagnostic Medical Device

For Slide, Tube and Microplate Test and for combination with Ortho BioVue® Reverse Diluent Cassettes

INSTRUCTIONS FOR USE

Control-solution for monoclonal reagents

 05.147.10

INTENDED USE

A doubtful result with a monoclonal reagent may occur by autoimmunoantibodies, protein anomalies, rouleaux formation or positive DCT. With each testing with monoclonal reagents a control should be done with control-solution to demonstrate that a positive result depends on active antibody. The procedures described are for the listed manual methods and application with Ortho BioVue® Reverse Diluent cassettes on the ORTHO VISION™ Analyzer and ORTHO AutoVue® Innova. The control-solution is intended to be used by qualified and technical personnel only.

PRINCIPLE OF PROCEDURE

Control-solution for monoclonal reagents is a control reagent containing all ingredients of monoclonal reagents with the exception of a specific antibody. Is control-solution used instead of a monoclonal reagent the result has to be negative. A positive result with control-solution with erythrocytes tested in different techniques demands a retesting of specific reaction of used monoclonal reagent.

REAGENT

The listed reagent is available in following form:

Control-solution for monoclonal reagents

The reagent contains <0.1% (w/v) sodium azide as preservative. The reagent is prepared with sodium chloride, macromolecules and bovine albumin.

CAUTION: This control-solution is prepared from biological material. As biological product it should be looked upon as potentially infectious because of never complete exclusion of danger through excitants of disease. The control-solution contains sodium azide that may be toxic and may react with lead or copper to form highly explosive salts. On disposal flush with large quantities of water. Because of the above reasons the control-solution should be handled with proper care.

STORAGE REQUIREMENTS

Store at +2 to +8 °C (unopened / opened). May be at room temperature (+15 to +30°C) while in use. If the devices ORTHO VISION™ Analyzer or ORTHO AutoVue® Innova are used, the reagents may remain a maximum of 5 days on the device (+15 bis +30 °C). In principle, store and use the reagent to declared expiry date only.

REMARKS

- Inappropriate storage impairs efficacy of the solution.
- Centrifugation highly different from appointed relative centrifugal force may lead to false results.
- The procedures described are for the listed manual methods and analyzers only. When using other automated or semi-automated instruments, follow the device manufacturer's procedures in the operator's manual. Laboratories must follow validation procedures.
- For usage of this testsera all effective national laws, directives and guidelines have to be observed, in Germany especially the „Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)“.

REAGENT PREPARATION

There is no specific preparation of the reagent required. Use reagent directly from the vial.

PROCEDURE

Material required but not provided:

Slide Method

- Glass slide
- Pasteur pipette
- Mixing stick

Tube Centrifugation Method

- Test tubes, 10 x 75 mm or 12 x 75 mm
- Mikroliter pipette designed to deliver approximately 50 µL/100 µL
- Centrifuge
- Isotonic saline (0,85 - 0,9% sodium chloride)
- Disposable pipette tips

Microplate Method

- Microplate with U-bottom, (optional: pre-treated)
- Centrifuge, suitable for centrifugation of microplates
- Microplate-carrier for centrifuge (option)
- Microplate shaker
- Microplatetest mirror (option)
- Pipette for 50 µL
- Isotonic saline; (0,85 – 0,9 % sodium chloride)
- Disposable pipette tips

Application of Ortho BioVue® Cassettes

- Ortho BioVue® System Centrifuge
- Isotonic saline (0,85 – 0,9 % sodium chloride)
- Mikroliter pipette for 10 µL, 40 µL and 50 µL
- Disposable pipette tips
- Ortho BioVue® System Work Rack
- Ortho BioVue® System Reverse Diluent Cassettes

Test procedure

Slide Method

- Use erythrocyte sediment or whole blood only.
- Place one drop (approximately 50 µL) of control-solution on a glass slide.
- Using a Pasteur pipette add one drop erythrocyte sediment or whole blood (approximately 50 µL) to the glass slide.
- Using a stick, mix the erythrocytes with reagent well and spread to a circle (diameter 2 cm).
- By slightly rotating the slide, check for agglutination within 1 minute (reaction starts within seconds). Document results. Unspecific reactions might appear due to drying of the reaction-formation or if the slide is heated.

Tube Centrifugation Method

- Use a 2% to 5% suspension of red blood cells in isotonic saline only (cells washed one time or up to three times with isotonic saline).
- Add 100 µL (alternative: one drop, approximately 50 µL) of control-solution to each tube.
- Add 100 µL (alternative: one drop, approximately 50 µL) of appropriate cell suspension to each tube.
- Mix well by slightly shaking.
- Incubate tube at room temperature (+15 to +30 °C) for 1-15 min.
- Centrifugation of tube for 1 minute at 2.000 rpm (approximately 800-1.000 g).
- Gently resuspend the red cells and within 3 minutes check macroscopically for agglutination. Document the result.

Microplate Method

- Prepare a 2% to 5% suspension of red blood cells in isotonic saline. Cells can be washed up to three times with isotonic saline.
- Add one drop (approximately 50 µL) of control-solution into each well.
- Add one drop (50 µL) of cell suspension into each well.
- Mix microplate on a microplate shaker.

Note: Recommended duration of mechanical shaker:

- (1) To mix: 10 to 30 seconds at medium strength.
- (2) To resuspend: 10 to 30 seconds at medium strength respectively with duration and strength, allowing a full resuspension of sediment without destruction of positive reactions.
- Centrifugation of microplate. Recommended duration of centrifugation: 30 seconds at approximately 400 x g, or as long as necessary to produce best positive reactions with antigen positive cells, with used centrifuge and microplate, and still have an easy resuspension of antigen negative cells.

Note: The used centrifugal force should be the minimum force to produce a sediment and a clear supernatant. Because of multitude offered centrifuges a general speed or duration for best results can not be recommended. Each laboratory has to test and validate its equipment for speed and duration to obtain best results.

- Loosen the erythrocyte knobs on the shaker and position microplate for reading.
- Read microplate and document the result.
- Tests with negative or doubtful results have to be incubated for 5 to 10 minutes at room temperature (+15 to +30 °C).
- Repeat steps 5 to 7 after incubation at room temperature.

Note: All tests should be resuspended and evaluated directly after centrifugation.

Manual Test Method in Ortho BioVue® Reverse Diluent Cassettes

The procedure described below is for manual Ortho BioVue® Cassettes testing only. Please refer to the instructions for use of the Ortho BioVue® Reverse Diluent Cassettes, sections STORAGE REQUIREMENT, PRECAUTIONS, SPECIMEN COLLECTION and PRÉPARATION, and INTERPRETATION OF RESULTS, as well as -where applicable- LIMITATIONS OF THE PROCEDURE.

- For preparation of the cassettes, please refer to the instructions for use for Ortho BioVue® Reverse Cassettes, chapter „procedure“ point 1 and 2.
- Prepare a 3 - 5% erythrocyte suspension in isotonic sodium chloride solution. Optionally, the erythrocytes may be washed up to three times in isotonic sodium chloride solution.
- Add 10 µL of a 3 to 5% suspension of test erythrocytes to the appropriate reaction chamber of the cassette.
- Add 40 µL control-solution to the appropriate reaction chambers of the cassette. The pipette tips shall not contact the rim of the reaction chambers. If this should adversely happen, please replace the tip with a new one, before you will fill the next reaction chamber.
- Centrifuge the cassette in the Ortho BioVue® System centrifuge.

Note: Centrifugation must be performed within 30 minutes after addition of specimens to the reaction chambers.

6. After completion of test, read each column from the cassette's front and rear sides for agglutination and/or hemolysis.

7. Protocol the final test result from the cassette side with the more clearly expressed positive reading.

Test in Ortho BioVue® Reverse Diluent Cassettes on ORTHO VISION™ Analyzer or ORTHO AutoVue® Innova

Please follow the instructions in the user manual of the respective analyzer.

INTERPRETATION OF RESULTS

"Slightly rotating/shaking" at Slide Method and at Tube Centrifugation Method and using a microplate shaker at Microplate Method:

Positive result (+): Visible agglutination of erythrocytes is a positive result and indicates here a doubtful result of the used monoclonal reagent.

Negative result (-): No visible agglutination of erythrocytes is a negative result and indicates the correct working of the used monoclonal reagent.

"Cassette method": As for the manual method, for interpretation of results, please refer to the instructions for use of Ortho BioVue® Reverse Cassettes, chapter „INTERPRETATION OF RESULTS“. As for analyzers, reading and interpretation is effected automatically by each device.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

- Inaccuracy at compliance with instructions written under section "Procedures" and "Interpretation of results" may lead to incorrect results.
- Enzyme treated erythrocytes may react unspecific.
- Pay attention to all statements to limitations in inserts of used Ortho BioVue® Reverse Diluent Cassettes and the user manual of respective analyzer.

LEGEND OF SYMBOLS

 Store from - to	 Product Code	 Expiration Date	 Manufacturer as to 98/79/EU
 Lot	 Clone(s)	 In vitro diagnostic medical device	 EU CE-symbol

 Antitoxin GmbH, Industriestraße 88, 69245 Bammental

730-22-3010 Version 010 / 30. Mrz 2015



In vitro diagnostic Medical Device

For Slide, Tube and Microplate Test and for combination with Ortho BioVue® Reverse Diluent Cassettes

INSTRUCTION D'UTILISATION

Control-solution for monoclonal reagents

 05.147.10

INTRODUCTION

Un résultat douteux peut se produire avec un réactif monoclonal en présence d'autoanticorps immuns, d'anomalie protéiques, de formation de rouleaux ou de Test Coombs direct positif. Pour chaque test avec des réactifs monoclonaux, un contrôle doit être effectué avec un témoin négatif afin de démontrer que le résultat positif a été clairement provoqué par l'anticorps spécifique. Les procédures décrites s'appliquent aux méthodes manuelles indiquées dans le feuillet technique des cassettes Reverse Diluent et dans les manuels d'utilisation des automates ORTHO VISION™ Analyzer et ORTHO AutoVue® Innova. L'utilisation de cette témoin négatif est destinée uniquement au personnel qualifié et formé.

PRINCIPE DU TEST

Le témoin négatif pour les réactifs monoclonaux est un réactif de contrôle contenant tous les ingrédients des réactifs monoclonaux à l'exception de l'anticorps spécifique.

Si le témoin négatif est utilisé à la place d'un réactif monoclonal, le résultat doit être négatif. En cas de résultat positif des hématies avec le témoin négatif dans les différentes techniques il est nécessaire de refaire le test avec tous les réactifs monoclonaux utilisés.

RÉACTIFS

Le réactif ci-dessous est produit par le clone cellulaire suivant :

Solution témoin pour réactifs monoclonaux

La solution témoin contient moins de 0,1 % (m/v) d'azide de sodium (conservateur). Par ailleurs le réactif contient un anticorps actif, du chlorure de sodium, des macromolécules et de l'albumine bovine.

MISE EN GARDE : Cette solution témoin est préparé à partir de surnageants de cultures cellulaires. Il est nécessaire de considérer ces produits biologiques comme potentiellement infectieux, car il n'est jamais possible d'exclure complètement le risque de présence d'agents pouvant déclencher une maladie. Le réactif contient de l'azide de sodium. Ce produit peut être toxique et réagir avec le plomb ou le cuivre en formant des sels hautement explosifs. Avant élimination, rincer abondamment à l'eau. Pour toutes ces raisons, le réactif doit être manipulé avec toute la précaution nécessaire.

CONDITIONS DE CONSERVATION

Conserver les flacons ouverts et fermés à une température allant de +2 °C à +8 °C. Pendant l'utilisation, les réactifs peuvent être maintenus à température ambiante (+15 °C à +30 °C). Lors de l'utilisation sur les appareils ORTHO VISION™ Analyzer ou ORTHO AutoVue® Innova, les réactifs peuvent rester au maximum 5 jours sur l'appareil (+15 à +30 °C). Ne pas utiliser les réactifs au-delà de la date de péremption indiquée.

REMARQUES

- Une conservation inadéquate du réactif altère son efficacité.
- Si la centrifugation est effectuée à une vitesse très différente de la force de centrifugation relative recommandée, les résultats seront erronés.
- Les procédures décrites ci-après s'appliquent uniquement à des analyses manuelles. Si des instruments automatiques sont utilisés, il convient de suivre les procédures indiquées dans le manuel technique fourni par le fabricant.
- Lors de l'utilisation de ces sérums test, il est nécessaire de respecter toutes les lois, directives et ordonnances nationales en vigueur. En Allemagne, respecter surtout les directives «Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestand-teilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)».

PRÉPARATION DES RÉACTIFS

Aucune préparation du réactif n'est requise. Utiliser le réactif directement à partir du flacon.

PROCÉDURE

Matériel requis mais non fourni:

Test sur lame

1. Lame de verre
2. Pipettes Pasteur
3. Bâtonnet-mélangeur

Test dans un tube à centrifuger

1. Tubes à essai 10 x 75 mm ou 12 x 75 mm
2. Pipettes pour 50 µL/100 µL
3. Centrifugeuse
4. Solution saline isotonique - 0,85 % à 0,9 % chlorure de sodium
5. Embouts de pipette jetables

Méthode en microplaque

1. Microplaque à fonds en U, (éventuellement prétraitée)
2. Centrifugeuse équipée de nacelles pour microplaque
- 3.
4. Agitateur de microplaque à vitesse variable
5. Lecteur de Microplaques (facultatif)
6. Pipette de 50 µL
7. Solution saline isotonique (0,85 – 0,9 % chlorure de sodium)
8. Cônes de pipettes jetables

Méthode d'analyse en carte

1. Centrifugeuse Ortho BioVue System
2. Solution saline isotonique - 0,85 % à 0,9 % chlorure de sodium
3. Micropipette pour 10 µL, 40 µL and 50 µL
4. Cônes de pipettes jetables
5. Ortho BioVue® System Work Rack
6. Ortho BioVue® System Reverse Diluent Cassettes

Procédure de test

Test sur lame

1. Utiliser uniquement des sédiments d'érythrocytes ou du sang entier.
2. Verser une goutte de solution témoin (environ 50 µL) sur une lame de verre.
3. À l'aide d'une pipette Pasteur, ajouter une goutte de sédiment d'érythrocytes ou de sang entier à (environ 50 µL) sur la lame de verre.
4. À l'aide d'un bâtonnet, bien mélanger les érythrocytes avec le solution témoin et étaler le mélange en formant un cercle d'environ 2 cm de diamètre.
5. En tournant légèrement la lame, vérifier s'il y a eu l'agglutination dans un délai d'une minute (la réaction se déclenche en quelques secondes). Noter les résultats. Des réactions non spécifiques peuvent se produire si la réaction-formation sèche ou si la lame chauffe.

Test dans un tube à centrifuger

1. Préparer une suspension de globules rouges à environ 2-5 % dans la solution saline isotonique (laver globules rouges une à trois fois dans la solution saline isotonique, au préalable).
2. Placer 100 µL ou alternativement, 1 goutte (environ 50 µL) de solution témoin dans chaque tube.
3. Ajouter 100 µL ou alternativement, 1 goutte (environ 50 µL) de la suspension de cellules appropriée dans chaque tube.
4. Agiter légèrement pour bien mélanger.
5. Incuber le tube pendant 15 minutes à température ambiante (+15 à +30 °C).
6. Centrifuger le tube pendant une minute à une vitesse de 2.000 tr/min (environ 800 à 1,000 g).
7. Resuspendre doucement les globules rouges et examiner le degré d'agglutination pendant trois minutes par observation macroscopique. Noter le résultat.

Méthode en Microplaque

1. Préparez une suspension de 2 à 5 % de globules rouges dans une solution saline isotonique. Les cellules peuvent être lavées jusqu'à trois fois avec une solution saline isotonique.
2. Ajouter une goutte (environ 50 µL) de solution témoin dans le puits.
3. Ajouter une goutte (50 µL) de suspension cellulaire dans chaque puits.
4. Agiter la microplaque sur l'agitateur de plaques :

REMARQUE: Durée recommandée de l'agitation mécanique

- (1) Pour mélanger : 10 à 30 secondes à agitation moyenne.

- (2) Pour la remise en suspension : 10 à 30 secondes à agitation moyenne ou durant une période et avec une vitesse permettant la re-suspension des culots globulaires sans destruction des réactions positives.

5. Centrifuger la microplaque. Durée recommandée de la centrifugation : 30 secondes à environ 400 x g ou aussi longtemps que nécessaire afin d'obtenir la réaction des anticorps avec les érythrocytes porteurs d'antigènes la plus forte tout en ayant une suspension facile des érythrocytes négatifs aux antigènes suite à la centrifugation et à l'agitation de la microplaque. Remarque : La vitesse de centrifugation appliquée au mélange cellules/sérum test doit être minimale afin d'obtenir un culot globulaire et un surnageant clair. En raison de la multitude de centrifugeuses sur le marché, aucune vitesse ni durée ne peuvent être fournies de manière standard pour obtenir les meilleurs résultats. Chaque laboratoire doit tester et valider ses équipements en termes de vitesse et de durée pour l'optimisation des résultats.

6. Remettre les culots globulaires en suspension sur l'agitateur puis insérer la microplaque dans le lecteur

7. Lire la microplaque et documenter le résultat.

8. Les tests dont les résultats sont négatifs ou douteux doivent être incubés pendant 5 à 10 minutes à température ambiante (+15 à +30 °C).

9. Répétez les étapes 5 à 7 après l'incubation à température ambiante.

REMARQUE: tous les tests doivent être remis en suspension et la lecture doit se faire directement après la centrifugation.

Méthode manuelle avec les cassettes Diluent Reverse Ortho BioVue® System

La procédure décrite ci-dessous concerne uniquement le test manuel des cassettes Ortho BioVue®. Veuillez-vous référer au mode d'emploi des cassettes de diluant inverse Ortho BioVue®, aux chapitres CONDITIONS DE CONSERVATION, PRECAUTIONS D'EMPLOI, PRELEVEMENT ET PREPARATION DES ECHANTILLONS, INTERPRETATIONS DES RESULTATS ainsi que -le cas échéant- LIMITES DE VALIDITE

1. Pour la préparation des cassettes, veuillez-vous référer au mode d'emploi des cassettes Ortho BioVue® Reverse, chapitre "procédure" points 1 et 2.

2. Préparer une suspension d'érythrocytes à 3 - 5 % dans le diluant (spécifique pour cartes). Les érythrocytes peuvent être lavés 1 à 3 fois à l'avance avec une solution saline isotonique.

3. Ajouter 10 µL du suspension d'érythrocytes à 3 - 5 % approprié dans chaque micro tube.

4. Ajouter 40 µL de solution témoin dans la chambre de réaction appropriée de la cassette. Les embouts des pipettes ne doivent pas entrer en contact avec le bord de la chambre de réaction. Si cela devait se produire, veuillez remplacer l'embout par un nouvel embout, avant de remplir la prochaine chambre de réaction.

5. Centrifuger la cassette en utilisant la centrifugeuse Ortho BioVue System

Remarque : La centrifugation doit être effectuée dans les 30 minutes qui suivent la distribution des échantillons dans les chambres de réaction.

6. Lire les deux faces des colonnes individuelles pour rechercher une agglutination et/ou une hémolyse une fois le test terminé.

7. Noter le résultat final sur la face où l'intensité positive est la plus marquée.

Test avec les cassettes Diluent Reverse Ortho BioVue sur les analyseurs ORTHO VISION™ Analyzer ou ORTHO AutoVue® Innova

Veuillez suivre les instructions figurant dans le manuel d'utilisation de l'analyseur correspondant.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Tourner légèrement la lame si la méthode sur lame est utilisée. Agiter doucement le tube en cas de centrifugation de tube et d'utilisation d'un agitateur de microplaque avec la méthode en microplaque

Résultat positif (+): l'agglutination visible des érythrocytes constitue un résultat positif et indique un résultat douteux lors de l'utilisation du réactif monoclonal.

Résultat négatif (-): l'absence d'agglutination visible des érythrocytes constitue un résultat négatif et indique le bon fonctionnement du réactif monoclonal utilisé.

Cassette: Comme pour la méthode manuelle, pour l'interprétation des résultats, veuillez-vous référer au mode d'emploi des cassettes Ortho BioVue® Reverse, chapitre "INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS".

LIMITES DE LA PROCÉDURE

1. Si les instructions figurant dans les paragraphes « Procédure » et « Interprétation des résultats » ne sont pas scrupuleusement respectées, les résultats obtenus peuvent être incorrects.
2. Des érythrocytes traités enzymatiquement peuvent réagir de manière non spécifique.
3. Prière de tenir compte des limitations mentionnées dans la fiche technique des cassettes Ortho BioVue Reverse ainsi que dans le manuel de référence de l'analyseur correspondant.

ICÔNE

	Conserve de - a	REF	Product Code		Expiration Date		Manufacturer as to 98/79/EU
LOT	Lot	CLON	Clone(s)	IVD	In vitro diagnostic medical device		EU CE-symbol