

# 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	Röhrchenmethode	Mikrotiterplattenmethode	Verwendung von Ortho BioVue® Kassetten
1. Objektträger	1. Teströhrchen, 10 x 75 mm	1. Mikrotiterplatten mit U-Boden, ggf. vorbehandelt	1. Ortho BioVue® System Zentrifuge
2. Pasteurpipette	oder 12 x 75 mm	2. Laborzentrifuge, die Mikrotiterplatten(-träger) aufnehmen kann	2. Isotonische Kochsalzlösung (0,85 – 0,9 % Natriumchlorid)
3. Rührstäbchen	2. Mikroliterpipette für 50 µL/100 µL	3. Mikrotiterplattenträger für Zentrifugen (optional)	3. Mikroliterpipette zur Abgabe von 10 µL, 40 µL und 50 µL
	3. Zentrifuge	4. Mikrotiterplatten-Schüttler	4. Einweg-Pipettenspitzen
	4. Isotonische Kochsalzlösung (0,85 - 0,9% Natriumchlorid)	5. Ablesespiegel für Mikrotiterplattentests (optional)	5. Ortho BioVue® System Arbeitsstände
	5. Einweg Pipettenspitzen	6. Mikroliterpipetten zur Abgabe von 50 µL	6. Ortho BioVue® Reverse Diluent Kassetten
		7. Isotonische Kochsalzlösung (0,85 - 0,9 % Natriumchlorid)	
		8. Einweg Pipettenspitzen	

### Testdurchführung

#### Objektträger-Test

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 fragile 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 approved 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	Tube Centrifugation Method	Microplate Method	Application of Ortho BioVue® Cassettes
1. Glass slide	1. Test tubes, 10 x 75 mm or 12 x 75 mm	1. Microplate with U-bottom, (optional: pre-treated)	1. Ortho BioVue® System Centrifuge
2. Pasteur pipette	2. Mikroliter pipette designed to deliver approximately 50µL/100 µL	2. Centrifuge, suitable for centrifugation of microplates	2. Isotonic saline (0,85 – 0,9 % sodium chloride)
3. Mixing stick	3. Centrifuge	3. Microplate-carrier for centrifuge (option)	3. Mikroliter pipette for 10 µL, 40 µL and 50 µL
	4. Isotonic saline (0,85 - 0,9% sodium chloride)	4. Microplate shaker	4. Disposable pipette tips
	5. Disposable pipette tips	5. Microplatetest mirror (option)	5. Ortho BioVue® System Work Rack
		6. Pipette for 50 µL	6. Ortho BioVue® System Reverse Diluent Cassettes
		7. Isotonic saline; (0,85 – 0,9 % sodium chloride)	
		8. Disposable pipette tips	

### 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:

- To mix: 10 to 30 seconds at medium strength.
  - 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.
5. 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.

6. Loosen the erythrocyte knobs on the shaker and position microplate for reading.
7. Read microplate and document the result.
8. Tests with negative or doubtful results have to be incubated for 5 to 10 minutes at room temperature (+15 to +30 °C).
9. 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.

1. For preparation of the cassettes, please refer to the instructions for use for Ortho BioVue® Reverse Cassettes, chapter „procedure “ point 1 and 2.
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.
3. Add 10 µL of a 3 to 5% suspension of test erythrocytes to the appropriate reaction chamber of the cassette.
4. 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.
5. 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

1. Inaccuracy at compliance with instructions written under section "Procedures" and "Interpretation of results" may lead to incorrect results.
2. Enzyme treated erythrocytes may react unspecific.
3. 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	<b>REF</b> Product Code	 Expiration Date	 Manufacturer as to 98/79/EU
<b>LOT</b> Lot	<b>CLON</b> Clone(s)	<b>IVD</b> In vitro diagnostic medical device	<b>CE</b> EU CE-symbol