



QUIDEL

Hs27(HFF) FreshFrozenCells®

Uniquement pour exportation. Pas destine a la vente aux États-Unis.

Ampoules de cellules congelées à utiliser dans la préparation de flasques, de shell-vials et de plaques multipuits pour cultures cellulaires.

UTILISATION POUR LE DIAGNOSTIC *IN VITRO*



UTILISATION PRÉVUE

Les ampoules Hs27 FreshFrozenCells (Cellules fraîches congelées de fibroblastes de prépuce humain) sont prévues pour l'utilisation dans la production de cultures cellulaires en monocouches en flasques ou plaques multipuits.¹ Bien que les cultures cellulaires soient utiles dans l'isolement des virus, les cellules congelées doivent être mises en culture avant cette utilisation. Le laboratoire doit déterminer le type de cellules hôtes pour l'isolement d'un virus particulier.² L'utilisation dans des procédures de diagnostic sans mise en culture préalable n'a pas été évaluée.

Les cellules FreshFrozenCells sont fournies sous forme d'ampoules de cellules congelées dans une solution cryo-protectrice [DMSO dans une base de Milieu Essentiel Minimum (MEM) et de Sérum Veau Foetal (SVF)].

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

- Pour une utilisation en diagnostic *in vitro*.
- Un produit FreshFrozenCells (Cellules fraîches congelées) décongelés ne doit pas être recongelé.
- Comme pour toute méthode d'identification virale à l'aide de cultures cellulaires, le personnel doit être correctement formé à la culture virale et aux techniques,^{3,4} c'est-à-dire les manipulations présentant des risques potentiels pour le personnel doivent être effectuées dans une enceinte de biosécurité de classe II et des gants doivent être portés en permanence.
- Bien que les cultures cellulaires soient utiles dans l'isolement des virus, les cellules congelées doivent tout d'abord être mises en culture avant cette utilisation. Les cellules Hs27 doivent être mises en culture sur support verre ou plastique adapté (shell-vials, plaques multipuits, tubes ou flasques).
- Les cultures cellulaires utilisées pour l'identification des virus peuvent également servir à dupliquer des agents infectieux classifiés par le CDC comme agents nécessitant une culture dans des conditions BSL-3.⁵ CDC pour obtenir une description des agents infectieux BSL-3 et les recommandations respectives.
- La date de péremption indiquée sur l'emballage s'applique si le produit est conservé à une température constante de -70°C ou moins. Tout écart par rapport aux conditions de conservation ou de décongélation indiquées peut provoquer une détérioration de la qualité du produit avant la date de péremption.
- Les cultures et les échantillons doivent être placés en autoclave ou désinfectés dans une solution d'hypochlorite de sodium (dilution finale de 1:10 de chlore pour utilisation domestique) avant d'être éliminés.
- Le test doit être effectué dans une zone suffisamment ventilée.
- Éliminer les contenants et les contenus non utilisés conformément aux exigences fédérales, nationales et réglementations réglementaires locales.
- Porter des gants et des lunettes de protection, et suivre les bonnes pratiques de laboratoire en manipulant cette kit.

- Lavez-vous soigneusement les mains après manipulation.
- Pour en savoir plus sur les symboles de danger, la sécurité, la manipulation et l'élimination des composants de ce kit, veuillez vous référer à la Fiche de données de sécurité (FDS) que vous trouverez sur quidel.com.

INSTRUCTIONS RELATIVES À LA CONSERVATION ET LA STABILITÉ DES ÉCHANTILLONS

Indicateurs d'instabilité ou de détérioration

- Les variations des températures dans le congélateur de l'utilisateur final peuvent potentiellement affecter le pourcentage de viabilité des cellules lors du stockage. Cette perte peut prolonger la période nécessaire aux cellules pour atteindre la confluence.
- Afin de garantir la viabilité des cellules, il est impératif de les conserver congelées jusqu'au dernier moment avant leur utilisation.
- En cas de présence des indicateurs de détérioration suivants durant la culture cellulaire, éliminer les cultures et contacter le fournisseur:
 - ▶ Les cellules en culture n'atteignent pas la confluence.
 - ▶ Modifications de la morphologie caractéristique des cellules (par ex. arrondissement, décollement, rétraction ou formation de vacuoles).
 - ▶ Milieu de culture trouble ou jaune (indiquant un changement de pH de neutre à l'acide et signalant une contamination bactérienne ou fongique).

Instructions de conservation

- Les FreshFrozenCells (Cellules fraîches congelées) conservées à une température de -70°C ou inférieure ont une durée de validité de 6 mois à partir de la date d'expédition depuis le site de Quidel.
- Les cellules Hs27 FreshFrozenCells sont expédiées dans de la carboglace. À réception, une partie de la carboglace **doit** toujours recouvrir l'emballage contenant les ampoules. Il est impératif que le produit ne soit pas exposé à des températures supérieures à -70°C . Une faible quantité ou l'absence de carboglace lors de la réception indique le réchauffement ou la décongélation des cellules ainsi que la perte de leur viabilité. Contacter votre distributeur pour obtenir des instructions complémentaires.
- À réception, transférer immédiatement les ampoules dans un congélateur (de préférence un modèle de type « coffre ») à une température de -70°C ou inférieure, ou dans la phase gazeuse d'un cryo-conservateur sans les laisser se réchauffer ou décongeler (pour une conservation jusqu'à la date de péremption du produit à une température de -70°C ou inférieure).

ASSURANCE QUALITÉ

- Les cellules **Hs27** proviennent de sources fiables, sûres et traçables. Avant acceptation dans l'unité de production de DHI, le type cellulaire est analysé à travers un historique de documentation et en réalisant des analyses de laboratoire afin de vérifier l'absence de micro-organismes (par des tests de stérilité) et de virus [par la mise en évidence d'absence d'effet cytopathogène (ECP)].
- **Remarque relative aux lignées cellulaires d'origine humaine :** Les inventaires des lots de cette lignée cellulaire d'origine humaine de DHI ont été testés à l'aide de techniques PCR afin de garantir l'absence d'ADN viral du VIH et du VHB.

Spécifications du lot

- Avant l'expédition de chaque lot de Hs27 FreshFrozenCells, les échantillons représentatifs du lot sont :
 - ▶ Analysés pour détecter des traces de *Mycoplasma spp.* et d'autres microorganismes contaminants potentiels.
 - ▶ Mis en culture et les monocouches produites sont examinées au microscope afin d'analyser leur morphologie, leur confluence et leur homogénéité.

- ▶ Caractérisés en termes d'identité des espèces par analyse isoenzymatique.
- Les informations n'apparaissant pas dans la notice du produit, le certificat d'analyse ou la fiche de données de sécurité sont disponibles sur demande.

LIMITATIONS

Les conditions d'expédition peuvent affecter la période de validité d'ampoule de cellules congelées. Afin de réduire ce risque, ne pas laisser les ampoules conservées se réchauffer ou décongeler (les conserver à des températures de -70°C ou inférieures) avant de préparer les flasques ou les plaques multipuits pour les cultures cellulaires. Une fois propagées, l'apparence et la morphologie des cultures doivent être analysées avant l'inoculation. Le vieillissement des cultures cellulaires dû au passage peut entraîner une perte de sensibilité à l'isolement et la reproduction du virus.

COMMENTAIRES PRÉLIMINAIRES

Les cultures cellulaires fournissent les systèmes hôtes vivants nécessaires à l'isolement des virus. La procédure d'isolement viral implique habituellement l'incubation d'un échantillon clinique préparé avec la lignée cellulaire permissive adaptée (Tableau 1).^{6,7} La période d'incubation varie en fonction du virus. La méthode classique de détection de l'infection virale dans la culture cellulaire consiste à observer les modifications cellulaires dues à l'infection et la reproduction du virus, nommé effet cytopathogène (ECP). Ces dernières années, l'utilisation d'anticorps monoclonaux dirigés spécifiquement contre les antigènes d'un agent infectieux afin de déterminer la présence et l'identité cet agent a été largement acceptée. Cette méthodologie a augmenté la sensibilité des cultures cellulaires et a réduit la durée de détection de l'agent infectieux.

Table 1. Hs27 FreshFrozenCells (Cellules fraîches congelées) et leurs profils de sensibilité aux virus.

Réf	Lignée Cellulaire/Origines	Agents Infectieux
87-	Hs27 (HFF) Fibroblastes de prépuce humain	adénovirus, CMV, échovirus, HSV, oreillons, poliovirus, rhinovirus, VZV
Codes de format d'emballage		
-00050C	ampoule "50-mer" [Suffisant pour environ 50 puits d'une taille plaques multipuits de 24 ou 50 shell-vials/tubes 13-mm. ou un flasques de T-25 cm2.]	
Des types ou des formats cellulaires supplémentaires sont disponibles sur demande.		

PROCÉDURE D'UTILISATION CONSEILLÉE

Décongélation des cellules

1. Toutes les activités de culture cellulaire doivent être réalisées à l'aide de techniques aseptiques.
2. Préchauffer le milieu fibroblaste de croissance des cellules (*Cell Growth Medium* 10-210125) dans un bain- marie entre 35°C et 37°C .
3. Décongeler l'ampoule de Hs27 FreshFrozenCells rapidement en le faisant légèrement tourbillonner dans un bain-marie entre 35°C et 37°C .
 - ▶ Ne pas laisser l'ampoule décongeler plus de 4 minutes.
 - ▶ Ne pas immerger le capuchon de l'ampoule car l'eau du bain-marie pourrait s'infiltrer à l'intérieur de l'ampoule et contaminer les cellules.
4. Décontaminer la partie immergée de l'ampoule avec des lingettes alcoolisées (ou avec un produit similaire). Seule la partie immergée de l'ampoule doit être décontaminée. Ne pas laisser l'alcool s'infiltrer sous le capuchon de l'ampoule. L'introduction d'alcool dans l'ampoule aurait des effets nuisibles sur les cellules.
5. Mélanger les cellules décongelées en pipetant par aller- retour successifs 2 à 3 fois à l'aide d'une pipette de transfert stérile. NE PAS VORTEXER.

Préparation de flasques T-25 cm²

1. Transférer 70 ml du milieu de croissance des cellules (Cell Growth Medium 10-210125) préalablement chauffé 35°C et 37°C dans un récipient stérile.
2. Transférer l'intégralité du contenu de l'ampoule à l'aide d'une pipette de transfert stérile dans le milieu de croissance des cellules préchauffé.
3. Mélanger les cellules et le milieu par retournement ou léger tourbillonnement pendant 1 minute environ. NE PAS VORTEXER.
4. Transférer 7 ml de cette suspension cellulaire dans une flasque stérile T-25 cm². Préparer 10 flasques de la même manière.
5. Incuber entre 35°C et 37°C, sous 5% de CO₂, dans un incubateur humidifié, pendant au moins 3 jours. Veiller à laisser reposer les cellules pendant les premières 48 heures.
6. Examiner la confluence des monocouches. Une confluence de 90% à 100% est acceptable pour une utilisation dans la plupart des cultures cellulaires.

Préparation de plaques de culture 24 puits

1. Transférer 100 ml de milieu de croissance des cellules (Cell Growth Medium 10-210125) préalablement chauffé à 37°C dans un récipient stérile.
2. Transférer l'intégralité du contenu de l'ampoule à l'aide d'une pipette de transfert stérile dans le milieu de croissance des cellules préchauffé.
3. Mélanger les cellules et le milieu par retournement ou léger tourbillonnement pendant 1 minute environ. NE PAS VORTEXER.
4. Transférer 0,75 ml de suspension cellulaire dans chaque puits d'une plaque 24 puits stérile. Préparer 5 plaques de la même manière.
5. Incuber entre 35°C et 37°C, sous 5% de CO₂, dans un incubateur humidifié pendant au moins 3 jours. Veiller à laisser reposer les cellules pendant les 48 premières heures.
6. Examiner la confluence des monocouches. Une confluence de 90% à 100% est acceptable pour une utilisation dans la plupart des cultures cellulaires.

Inoculation de l'échantillon

1. Retirer le milieu de croissance des cellules (Cell Growth Medium 10-210125) par aspiration.
2. Ajouter dans la flasque ou le puits, soit 7 ml, soit 1 ml de milieu d'ensemencement approprié.
3. Ajouter l'échantillon préparé selon les procédures d'utilisation établies dans le laboratoire.
4. Traiter les flasques ou les plaques multipuitslaboratoire.
5. Les monocouches doivent être examinées 24 heures après l'inoculation ou à des intervalles adaptés, afin de détecter la présence d'effet cytopathogène.

RÉSULTATS

Consulter les documents de référence appropriés pour les résultats attendus et les recommandations d'information.

CONTRÔLE DE QUALITÉ

Des contrôles avec des cellules non inoculées (contrôles négatifs) doivent être effectués pour chaque lot d'échantillons testés. Les contrôles négatifs sont traités comme les monocouches inoculées.

Des contrôles positifs peuvent être effectués en utilisant des agents viraux préalablement identifiés qui produiront le résultat attendu à partir d'un échantillon patient positif (ex. ECP).

ASSISTANCE

Pour toute commande ou assistance technique, veuillez contacter un représentant Quidel au +1 800 874 1517 (aux États-Unis) ou +1 858 552 1100 (hors des États-Unis), du lundi au vendredi, de 8h00 à 17h00, heure de l'Est. Les commandes peuvent également être passées par fax au +1 740 592 9820. Pour obtenir de l'aide par e-mail, veuillez écrire à customerservice@quidel.com ou à technicalsupport@quidel.com.

Pour des services en dehors des États-Unis, veuillez contacter votre distributeur local. Pour plus d'informations sur Quidel, nos produits, et nos distributeurs, veuillez consulter notre site Internet quidel.com.

RÉFÉRENCES

1. Holper, J.C. Characteristics of primary cultures and diploid cells - Technology of production. National Cancer Institute Monograph. 1968 No. 29 p 21-31.
2. Razonable, R.R., Paya, C.V., Smith, T.C. Role of the Laboratory in Diagnosis and Management of Cytomegalovirus Infection in Hematopoietic Stem Cell and Solid-Organ Transplant Recipients. J. Clin. Microbiol. 2002 vol. 40: 746-752.
3. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL), 5th edition, 2007, CDC-NIH manual. [<http://www.cdc.gov/od/ohs/biosfty/bmb15/bmb15toc.htm>]
4. Biosafety Manual, 3rd edition, 2004. World Health Organization [Manual is available in additional languages; refer to WHO web page; http://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/WHO_CDS_CSR_LYO_2004_11/en/]
5. Laboratory Biosafety Guidelines, 3rd edition, 2004. Published by authority of the Minister of Health, Population and Public Health Branch, Centre for Emergency Preparedness and Response [Guideline is available in French or English; refer to web page [<http://www.phac-aspc.gc.ca/publicat/lbg-lmbl-04/index.html>]]
6. Viral Culture; Proposed Guideline M41-P. Vol. 26, No. 7. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA. 2006.
7. McAteer J.A., W.H.J. Douglas. Monolayer culture techniques in: W.B. Jakoby (ed): Cell culture Methods in Enzymology, 1979, Vol. 58, p 132-140, Academic Press.



87-00050C – Hs27 FreshFrozenCells



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Diagnostic Hybrids, Inc. – a subsidiary of Quidel Corporation
2005 East State Street, Suite 100
Athens, OH 45701 USA
quidel.com

PI0608700FR00 (02/19)

GLOSSARY

REF

Référence catalogue



Conformité Européenne

EC REP

Représentant autorisé dans
la Communauté Européenne

LOT

Référence du lot



Date d'expiration



Fabricant



Conditions de stockage



Utilisation prévue



Consulter les instructions
électroniques



Risques biologiques

IVD

Pour utilisation *in vitro*

CONT

Contenu
