

CHANG Medium BMC

Bone Marrow Culture Medium

Catalog No. 91004

100mL,500mL

For *in vitro* diagnostic use.Zur *In-vitro*-Diagnostik.Solo per uso diagnostico *in vitro*.Pour diagnostics *in vitro*.Para uso diagnóstico *in vitro*.Para utilização em diagnóstico *in vitro*.Για *in vitro* διαγνωστική χρήση.Uitsluitend voor *in vitro* diagnostisch gebruik.Pro diagnostické použití *in vitro*.Til *in vitro*-diagnostik.*In vitro* -diagnostikaan.Liešanai *in vitro* diagnostikā.Pentru uz diagnostic *in vitro*.Für *in vitro*-diagnostik.Do diagnostyki *in vitro*.*In vitro* diagnostiseks kasutamiseks.*In vitro* diagnostikai alkalmazáshoz.Skirta *in vitro* diagnostikal.*In vitro* diagnostik kullanım için.Na diagnostické použitie *in vitro*.Za *in vitro* диагностична употреба.Za upotrebu u *in vitro* dijagnostici.Għal użu dijanostiku *in vitro*.Za diagnostično uporabo *in vitro*.

REFERENCES

Tijo, JH, and Whang-Peng, J: Direct Preparation of Bone Marrow Cells. Human Chromosome Methodology (JJ Yunis, ed.), Academic Press, New York, 1974.

Hozier, JC, and Lindquist, L: Banded Karyotypes from Bone Marrow: A Clinically Useful Approach. Human Genetics, 53:205-209, 1980.

Williams, DL, et al: A Direct Bone Marrow Chromosome Technique for Acute Lymphoblastic Leukemia. Cancer Genetics and Cytogenetics, 13:239-257, 1984.

Babior, B, and Stossel, T: Hematology, A Pathophysiological Approach, Churchill-Livingstone, Inc., New York 1990.

LeBeau, M: Cytogenetic Analysis of Hematologic Malignant Diseases. ACT Cytogenetics Laboratory Manual, Raven Press, New York, 1991.

Mitelman, F: Catalog of Chromosome Aberrations in Cancer (4th ed.), Alan Liss, New York, 1991.

Kaplan, B, and Dale, K (eds): The ACT Cytogenetic Symposia, CA 1994.

Mitelman, F, and Heim, S: Cancer Cytogenetics, Wiley-Liss, New York, 1995.

ENGLISH

INDICATION FOR USE

CHANG Medium BMC is intended for use in primary culture of clinical Human Bone Marrow Cultures for karyotyping and other genetic testing of various hematological disorders.

DEVICE DESCRIPTION

CHANG Medium BMC is a ready-to-use medium consisting of RPMI Medium 1640, with FBS, HEPES buffer, L-glutamine, Giant Cell Tumor (GCT) Conditioned Medium and Gentamicin Sulfate. CHANG Medium BMC has been optimized to support efficient cell attachment and growth of bone marrow cells for cytogenetic analysis. No addition of any components prior to culturing bone marrow is required.

COMPONENTS

Amino Acid	Proteins, Hormones, and Growth Factors	Vitamins and trace elements
Arginine	Fetal bovine serum (FBS)	Folic acid
Asparagine		Nicotinamide
Aspartic Acid		Riboflavin
Cysteine		Thiamine
Glutamine	pH Indicator	Pantothenic acid
Glutamic Acid	Phenol red	Cobalamin
Glycine		Piroxidine
Histidine		Aminobenzoic acid
Hydroxyproline	Salts & Ions	
Isoleucine	Sodium chloride	
Leucine	Choline chloride	Other
Lysine	Potassium chloride	Giant cell tumor conditioned medium (GCT-CM)
Methionine	Magnesium sulfate	Glutathione
Phenylalanine	Sodium phosphate	Biotin
Proline	Calcium Nitrate	
Serine		
Thereonine	Buffers	Energy Substrates
Tryptophan	Sodium bicarbonate	Glucose
Tyrosine	HEPES	Inositol
Valine		
		Antibiotic
		Gentamicin Sulfate
	Water	
	WFI Quality	

MATERIALS AND EQUIPMENT REQUIRED BUT NOT PROVIDED

1. Plastic Sterile Centrifuge Tubes and Culture Flasks
2. CO₂ Incubator at 37°C
3. Bench Centrifuge
4. Vortex Mixer
5. Colcemid Stock Solution, 10 µg/mL
6. Potassium Chloride Solution, 0.075 M
7. Fixative Solution, Melanol:Acetic Acid (3:1)

QUALITY ASSURANCE

Several factors including source of specimens, culture conditions and selection of reagents can influence the result obtained. Users are advised to run each new batch of reagent in parallel with reference material of known suitable activity before adoption in routine use. Each lot of CHANG Medium BMC has been performance tested on Clinical Bone Marrow Cultures at an independent Clinical Cytogenetics Laboratory compared to a control medium. Results are reported on a lot specific Certificate of Analysis.

PREPARATION FOR USE

CHANG Medium BMC should be thawed overnight in the refrigerator (2-8°C) then gently mixed to assure homogeneity. Aseptically dispense 10 mL of medium into sterile culture flasks and equilibrate to 37°C for immediate use for bone marrow cultures.

Note: Calcium carbonate crystals commonly form in CHANG Medium BMC. The presence of these crystals has not been shown to cause any detrimental effect on product performance.

DIRECTIONS FOR USE

Sample Preparation:

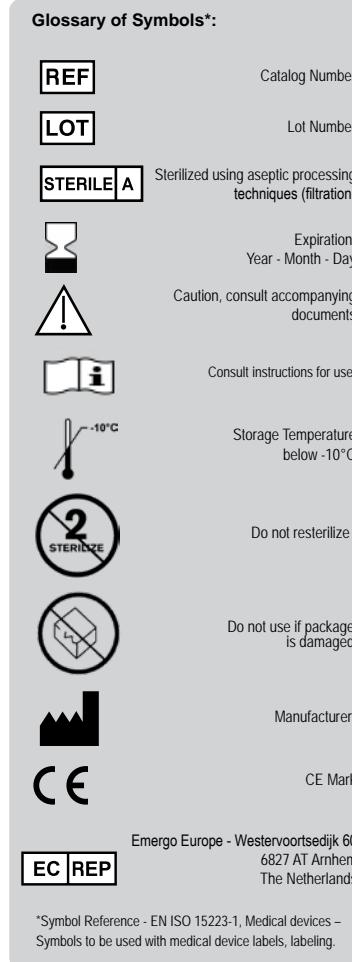
Use 0.5 to 1.0 mL of sodium heparinized bone marrow aspirate. Lithium heparin, EDTA, or citrate anticoagulants are unsuitable for cytogenetic studies.

- If more than 5 mL of bone marrow aspirate is received, the sample may be hemodiluted. Spin the specimen down to isolate the bone marrow fraction.

PRECAUTIONS AND WARNINGS

This device is intended to be used by staff trained in procedures that include the indicated application for which the device is intended.

CHANG Medium BMC contains FBS and GCT conditioned medium and should be handled with universal laboratory precautions. The medium contains an antibiotic (gentamicin) to reduce the potential for bacterial contamination, but aseptic techniques should always be used when dispensing the medium. Do not use any medium that is not red in color.



*Symbol Reference - EN ISO 15223-1, Medical devices – Symbols to be used with medical device labels, labeling.

- If the specimen arrives in transport medium, spin the sample down and remove the transport medium (supernatant). Inoculate using the remaining aspirate fraction.

For additional details on the use of these products, each laboratory should consult its own laboratory procedures and protocols which have been specifically developed and optimized for your individual medical program.

Bone Marrow Culture:

Label all culture vessels with patient name, specimen number, and culture type. For each specimen prepare a flask containing:

1. 10.0 mL CHANG Medium BMC.
2. Equilibrate flask to 37°C before inoculation of specimen.
3. Inoculate 0.5 mL (500 µL) of specimen, or the appropriate amount depending upon the white blood cell (WBC) count, into each flask containing 10.0 mL pre-equilibrated CHANG Medium BMC. Add less specimen if WBC is high (> 30,000) or more specimen if WBC is low (< 5,000).
4. Incubate flask at 37°C for 1-2 days.

Harvesting the Cultures:

1. Remove cultures from incubator and gently swirl to resuspend cells.
2. Transfer the contents of the flask to a 15 mL centrifuge tube.
3. Add 100 µL of stock Colcemid (10 µg/mL) to each tube.
4. Cap tubes and mix by inverting.
5. Incubate tubes at 37°C for 20 minutes.
6. After incubation, centrifuge tubes for 8 minutes at 1200 rpm (300 x g).
7. Carefully aspirate supernatant from each tube.
8. Resuspend the cell pellet by gently mixing, or flicking the bottom of the tube with forefinger.
9. VERY SLOWLY add 10 mL of hypotonic solution (0.075 M Potassium Chloride) to each tube while vortexing (on the lowest setting).
10. Let tubes stand at room temperature for 20 minutes (hypotonic treatment).
11. Centrifuge tubes for 8 minutes at 1200 rpm (300 x g).
12. Aspirate supernatant leaving about 1.0 mL of hypotonic solution above cell pellet.
- NOTE: Be cautious of fibrous material that may extend from the cell pellet up into the supernatant after centrifugation. The last few mL of supernatant may need to be removed by hand with a Pasteur pipette (not using vacuum aspiration) to avoid aspirating the entire cell pellet into the waste container.
13. Resuspend cell pellet as described in step 8.
14. VERY SLOWLY add 10 mL of 3:1 Methanol:Acetic acid fixative to each tube while vortexing (on the lowest setting).
15. Let tubes stand at room temperature for 20 minutes (first fix).
16. Repeat steps 11 - 13.
17. Add 5 mL of fixative as in step 14.
18. Let tubes stand at room temperature for 10 minutes (second fix).
19. Repeat steps 16-18 (third fix).
20. At this point, fixed cell pellets can be used immediately for slide preparation according to the laboratory's standard protocol or stored in the refrigerator (2-8°C) for future use.

STORAGE AND STABILITY

CHANG Medium BMC should be stored frozen below -10°C until ready to use. CHANG Medium BMC is stable until the expiration date shown on the bottle label when stored frozen. After thawing, any unused product can be dispensed into working aliquots and refrozen for later use, or tightly capped and stored at 2°C to 8°C for up to 30 days. Protect from fluorescent light.

INDIKATIONEN

Das CHANG Medium BMC ist für die Verwendung in der Primärkultivierung klinischer humarer Knochenmarkkulturen für die Karyotypisierung und andere Gentests auf verschiedene hämatologische Erkrankungen vorgesehen.

PRODUKTBESCHREIBUNG

Das CHANG Medium BMC ist ein gebrauchsfertiges Medium, bestehend aus RPMI Medium 1640 mit FBS, HEPES-Puffer, L-Glutamin, konditioniertem Riesenzelltumormedium (GCT) und Gentamicinsulfat. Das CHANG Medium BMC ist für eine effiziente Zellanhärtung und Wachstum von Knochenmarkzellen für die zytogenetische Analyse optimiert. Für die Kultivierung des Knochenmarks ist keine vorherige Zugabe zusätzlicher Stoffe erforderlich.

INHALTSSTOFFE

Aminosäure	Proteine	Vitamine und Spurenelemente
Arginin	Hormone und Wachstumsfaktoren	
Asparaginsäure	Folsäure	
Cystin	Nikotinamid	
Glutamin	Riboflavin	
Glutaminsäure	Pantothensäure	
Glycin	Thiamin	
Histidin	Cobalamin	
Hydroxyprolin	Pyridoxin	
Isoleucin	Salze und Ionen	Aminobenzoësäure
Leucin	Natriumchlorid	
Lysin	Cholinchlorid	Andere
Methionin	Kaliumchlorid	Riesenzelltumorkonditioniertes Medium (GCT-CM)
Phenylalanin	Magnesiumsulfat	
Prolin	Natriumphosphat	Glutathion
Serin	Calciumnitrat	Biotin
Threonin	Puffer	
Tryptophan	Natriumbicarbonat	Energiesubstrate
Tyrosin	HEPES	Glukose
Valin	Inositol	
Wasser	Antibiotikum	
Wasser für Injektionszwecke (WFI)	Gentamicinsulfat	

ERFORDERLICHE MATERIALIEN UND HILFSSTOFFE (NICHT IM LIEFERUMFANG)

1. Sterile Zentrifugenröhrchen und Kulturflaschen aus Kunststoff
2. CO₂-Incubator bei 37 °C
3. Tischzentrifuge
4. Vortexmixer
5. Colcemid-Ansatztlösung, 10 µg/ml
6. Kaliumchloridlösung, 0,075 M
7. Fixierlösung, Methanol: Essigsäure (3:1)

QUALITÄTSSICHERUNG

Das resultierende Ergebnis kann durch mehrere Faktoren wie unter anderem durch Probenherkunft, Kulturbedingungen und Auswahl der Reagenzien beeinflusst werden. Es wird empfohlen, jede neue Reagenscharge vor dem Einsatz im Routinebetrieb parallel mit Referenzmaterial bekannter geeigneter Aktivität zu analysieren. Die Leistungsdaten jeder Charge CHANG Medium BMC wurden mittels klinischer Knochenmarkkulturen in einem unabhängigen Labor für klinische Zytogenetik geprüft und einem Kontrollmedium gegenübergestellt. Die Ergebnisse sind auf einem chargenspezifischen Analysezertifikat angegeben.

VORBEREITUNG

Das CHANG Medium BMC sollte über Nacht im Kühlschrank (2-8 °C) aufgetaut und für eine optimale Homogenität anschließend vorsichtig gemischt werden. 10 ml Medium in sterile Kulturflaschen pipettieren und zur sofortigen Verwendung für Knochenmarkkulturen auf 37 °C erwärmen.

Hinweis: Häufig bilden sich Calciumcarbonatkristalle im CHANG Medium BMC. Es gibt keine Hinweise, dass die Anwesenheit dieser Kristalle die Produktleistung beeinträchtigt.

GEBRAUCHSANWEISUNG

Probenvorbereitung:
0,5 bis 1,0 ml natrumheparinisiertes Knochenmarkaspirat verwenden. Lithium-Heparin-, EDTA- oder Citrat-Antikoagulanzien sind für zytogenetische Studien nicht geeignet.

- Wurden mehr als 5 ml Knochenmarkaspirat erhalten, ist die Probe möglicherweise hämodiluiert. Die Probe herunterzentrifugieren, um die Knochenmarkfraktion zu isolieren.
- Wenn die Probe in einem Transportmedium geliefert wurde, die Probe herunterzentrifugieren und das Transportmedium (Überstand) entfernen. Mit der restlichen Aspiratfraktion beimpfen.

Weitere Einzelheiten zum Gebrauch dieser Produkte sind den Verfahren und Vorschriften des jeweiligen Labors zu entnehmen, die eigens für das jeweilige medizinische Programm entwickelt und optimiert wurden.

Knochenmarkkultur:

Alle Kulturgefäße mit Patientennamen, Probennummer und Kulturytyp beschriften. Für jede Probe eine Flasche mit Folgendem vorbereiten:

1. 10,0 ml CHANG Medium BMC.
2. Die Flasche vor der Beimpfung auf 37 °C aquilibrieren.
3. 0,5 ml (500 µl) Probe oder eine der Leukozytentzahl (LEU) entsprechenden Menge in jede der voräquilibrierten Flaschen mit den 10,0 ml CHANG Medium BMC impfen. Bei hohem Leukozytengehalt (> 30.000) weniger Probe bzw. bei geringem Leukozytengehalt (< 5.000) mehr Probe hinzugeben.
4. Die Flaschen 1-2 Tage bei 37 °C inkubieren.

Kulturgewinnung:

1. Die Kulturflaschen aus dem Inkubator nehmen und leicht schwenken, um die Zellen zu resuspendieren.
2. Den Inhalt aus der Flasche in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen übertragen.
3. In jedes Röhrchen 100 µl Colcemid (10 µg/ml) geben.
4. Die Röhrchen verschließen und durch Überkopfdrehen mischen.
5. Die Röhrchen 20 Minuten bei 37 °C inkubieren.
6. Die Röhrchen im Anschluss an die Inkubation 8 Minuten bei 1.200 U/min (300 x g) zentrifugieren.
7. Überstand von jedem Röhrchen vorsichtig absaugen.
8. Das Zellpellet durch vorsichtiges Mischen oder Anschnippen des Röhrchenbodens mit dem Zeigefinger resuspendieren.
9. GANZ LANGSAM 10 ml hypotone Lösung (0,075 M Kaliumchlorid) in jedes Röhrchen geben, während der Vortexmischer (auf niedrigster Stufe) läuft.
10. Die Röhrchen 20 Minuten bei Raumtemperatur stehen lassen (hypotone Behandlung).
11. Die Röhrchen 8 Minuten bei 1.200 U/min (300 x g) zentrifugieren.
12. So viel Überstand absaugen, dass etwa 1,0 ml hypotone Lösung über dem Zellpellet verbleiben.

HINWEIS: Beim Absaugen nach dem Zentrifugieren auf Fasermaterial vom Zellpellet achten, das eventuell in den Überstand hineinragen könnte. Die letzten ml Überstand sollten ggf. von Hand mit einer Pasteurpipette entfernt werden (ohne Vakuumaspiration), um zu verhindern, dass das ganze Zellpellet in den Abfallbehälter eingesaugt wird.

13. Das Zellpellet wie in Schritt 8 beschrieben resuspendieren.
14. GANZ LANGSAM 10 ml Fixiermittel Methanol: Essigsäure in Verhältnis 3:1 in jedes Röhrchen geben, während der Vortex-Mischer (auf niedrigster Stufe) läuft.
15. Die Röhrchen 20 Minuten bei Raumtemperatur stehen lassen (erste Fixierung).

ITALIANO**INDICAZIONI PER L'USO**

CHANG Medium BMC è indicato per l'uso in colture primarie di cellule di midollo osseo umano di classe clinica per la determinazione del cario tipo e altri test genetici relativi a vari disturbi ematologici.

DESCRIZIONE DEL DISPOSITIVO

CHANG Medium BMC è un terreno pronto all'uso composto da terreno RPMI 1640 con l'aggiunta di siero bovino fetale, tampone HEPES, L-glutammmina, terreno condizionato da tumore a cellule giganti (GCT) e gentamicina solfato. CHANG Medium BMC è stato ottimizzato per favorire un'efficace adesione cellulare e la crescita di cellule di midollo osseo per l'analisi citogenetica. Non è necessario aggiungere alcun altro componente prima di avviare la coltura delle cellule di midollo osseo.

COMPONENTI

Aminoacidi	Proteine, ormoni e fattori di crescita	Vitamine ed elementi in tracce
Arginina	Siero bovino fetale	Acido folico Nicotinamide Riboflavina
Asparagina	Indicatore di pH	Tiamina Acido pantotenico
Asparagine	Rosso fenolo	Sali e ioni Cloruro di sodio Cloruro di collina Cloruro di potassio
Cystin	Glicina	Soltanto di magnesio
Glutamina	Cistina	Fosfato di sodio Nitrito di calcio
Glutaminsäure	Idrossipropilina	Altro Terreno condizionato da tumore a cellule giganti (GCT-CM)
Glycin	Isoleucina	Terreno condizionato da tumore a cellule giganti (GCT-CM)
Histidin	Lisina	Altri Fosfato di sodio Nitrito di calcio
Hydroxyprolin	Metionina	Tamponi Bicarbonato di sodio HEPES
Isoleucin	Fenilalanina	Glutazione Biotina
Leucin	Prolina	Antibiotico Gentamicina solfato
Lysin	Serina	Substrati energetici Glucosio Inositol
Methionin	Treonina	Acqua Qualità WFI (acqua per iniezioni)
Phenylalanin	Triptofano	
Prolin	Tirosina	
Serin		
Threonin		
Tryptophan		
Tyrosin		
Valin		

MATERIALI E STRUMENTI NECESSARI MA NON FORNITI

1. Provette di plastica sterili per centrifuga e fiasche per coltura
2. Incubatore a CO₂ a 37 °C
3. Centrifuga da banco
4. Miscelatore Vortex
5. Soluzione stock di Colcemid, 10 µg/ml
6. Soluzione di cloruro di potassio, 0,075 M
7. Soluzione fissativa: metanolo:acido acetico (3:1)

GARANZIA DI QUALITÀ

Diversi fattori, tra cui l'origine dei campioni, le condizioni di coltura e la scelta dei reagenti, possono influenzare il risultato ottenuto. Quando si introduce un nuovo lotto di reagenti, prima di adottarlo nell'uso di routine, è consigliabile usarlo in parallelo a materiale di riferimento avente idonea attività nota. Ogni lotto di CHANG Medium BMC è stato valutato ai fini delle prestazioni su colture di midollo osseo di classe clinica presso un laboratorio di citogenetica clinica indipendente, confrontandolo con terreno di controllo. I risultati sono riportati nel Certificato di analisi specifico di ogni lotto.

PREPARAZIONE PER L'USO

Scongelare CHANG Medium BMC per una notte in frigorifero (2-8 °C) quindi miscelare delicatamente per rendere omogeneo. Dispensare in condizioni di sterilità 10 ml di terreno in fiasche per coltura sterili e portare a 37 °C per l'uso immediato per colture di midollo osseo.

Nota: la formazione di cristalli di carbonato di calcio in CHANG Medium BMC è un fenomeno normale. La presenza di questi cristalli non ha evidenziato effetti negativi sulle prestazioni del prodotto.

ISTRUZIONI PER L'USO

Preparazione del campione:
usare da 0,5 a 1,0 ml di aspirato midollare in eparin sodico. La litio eparkin, l'EDTA o gli anticoagulanti con citrato non sono indicati per studi citogenetici.

- Qualora si riceva più di 5 ml di aspirato midollare, il campione può essere emodiluito. Centrifugare il campione per isolare la frazione di midollo osseo.
- Se il campione arriva in un terreno di trasporto, centrifugarlo per farlo depositare e rimuovere il terreno di trasporto (surnatante). Inoculare utilizzando la parte rimanente di aspirato.

Per ulteriori dettagli sull'uso di questi prodotti, il laboratorio deve consultare le procedure e i protocolli specificamente sviluppati e ottimizzati per il proprio programma medico.

Coltura di midollo osseo

Etichettare tutti i contenitori culturali con il nome del paziente, il numero del campione e il tipo di coltura. Per ogni campione preparare una fiasca contenente:

1. 10,0 ml di CHANG Medium BMC.
2. Portare la fiasca a 37 °C prima di inoculare il campione.
3. Inoculare 0,5 ml (500 µl) di campione, oppure la quantità appropriata in funzione della conta leucocitaria, in ogni fiasca contenente 10,0 ml di CHANG Medium BMC preriscaldato. Aggiungere una quantità inferiore di campione se la conta leucocitaria è alta (> 30.000), o maggiore se la conta è bassa (< 5000).
4. Incubare la fiasca a 37 °C per 1-2 giorni.

Raccolta delle colture

1. Rimuovere le colture dall'incubatore e agitarle delicatamente per risospenderle le cellule.
2. Trasferire il contenuto della fiasca in una provetta per centrifuga da 15 ml.
3. Aggiungere 100 µl di Colcemid soluzione stock (10 µg/ml) a ogni provetta.
4. Chiudere le provette e miscelare capovolgendo.
5. Incubare le provette a 37 °C per 20 minuti.
6. Dopo l'incubazione, centrifugare per 8 minuti a 1200 g/min (300 x g).
7. Aspirare con attenzione il surnatante da ogni provetta.
8. Risospender le cellule utilizzando il fondo della provetta con l'indice.
9. Aggiungere MOLTO LENTAMENTE 10 ml di soluzione ipotonica (cloruro di potassio 0,075 M) a ogni provetta mentre questa è inserita nel miscelatore Vortex alla velocità minima.
10. Lasciare le provette a temperatura ambiente per 20 minuti (trattamento ipotonico).
11. Centrifugare per 8 minuti a 1200 g/min (300 x g).
12. Aspirare il surnatante lasciando circa 1,0 ml di soluzione ipotonica sopra il pellet cellulare.
- NOTA: fare attenzione al materiale fibroso che potrebbe estendersi dal pellet nel surnatante dopo la centrifugazione. Potrebbe essere necessario rimuovere gli ultimi ml di surnatante mediante una pipetta Pasteur (non usare la pompa a vuoto) per evitare di aspirare tutto il pellet nel contenitore di scarico.
13. Risospender il pellet come descritto al punto 8.
14. Aggiungere MOLTO LENTAMENTE 10 ml di fissativo (metanolo:acido acetico 3:1) a ogni provetta mentre questa è inserita nel miscelatore Vortex alla velocità minima.
15. Lasciare le provette a temperatura ambiente per 20 minuti (primo fissaggio).
16. Ripetere i punti da 11 a 13.
17. Aggiungere 5 ml di fissativo come descritto al punto 14.

CONSERVAZIONE E STABILITÀ

CHANG Medium BMC deve essere conservato congelato a temperatura inferiore a -10 °C fino all'uso. Se conservato congelato, è stabile fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta del flacone. Dopo lo scongelamento, il prodotto non utilizzato può essere dispensato in aliquote idonee all'utilizzo e ricongelato per utilizzarlo successivamente, oppure chiuso bene e conservato a 2-8 °C fino a 30 giorni. Proteggere da luce fluorescente.

PRECAUZIONI E AVVERTENZE

Questo prodotto è destinato all'uso da parte di personale addestrato nelle procedure che comprendono l'applicazione prevista del prodotto stesso.

CHANG Medium BMC contiene terreno condizionato per GCT e siero bovino fetale e deve essere maneggiato secondo le normali precauzioni di laboratorio. Il terreno contiene un antibiotico (gentamicina) per ridurre la potenziale contaminazione da batteri, tuttavia è necessario usare sempre tecniche in asepsi mentre si dispensa il terreno. Non utilizzare il terreno qualora non si presenti di colore rosso.

INDICATION D'UTILISATION

CHANG Medium BMC est destiné à être utilisé pour la culture primaire des cellules cliniques de moelle osseuse humaine lors du caryotypage et des autres tests génétiques de troubles hémato-génétiques.

DESCRIPTION DU DISPOSITIF

CHANG Medium BMC est un milieu prêt à l'emploi composé de RPMI Medium 1640, contenant du SVF, un tampon d'HEPES, de la glutamine L, un milieu conditionné de tumeur à cellules géantes (TCG) et du sulfate de gentamicine. CHANG Medium BMC a été optimisé pour favoriser la fixation cellulaire et la croissance des cellules de moelle osseuse efficaces lors de l'analyse cytogénétique. La culture de la moelle osseuse ne nécessite l'ajout d'aucun composant.

COMPOSANTS

Acides aminés	Indicateur de pH	Vitamines et oligo-éléments
Arginine	Rouge de phénol	Nicotinamide
Asparagine		Riboflavine
Acide aspartique	Sels et ions	Acide folique
Cystine	Chlorure de sodium	Tiamina
Glutamine	Chlorure de choline	Acide pantothénique
Acide glutamique	Chlorure de potassium	Cobalamine
Glycine	Sulfate de magnésium	Pyridoxine
Histidine	Phosphate de sodium	Acide aminobenzoïque
Hydroxyproline	Nitrate de calcium	Autre
Isoleucine	Tampons	Milieu conditionné de tumeur
Leucine	Bicarbonate de sodium	à cellules géantes (TCG)
Lysine	HEPES	Glutathione
Méthionine		Biotine
Phénylalanine		
Proline		
Sérine		
Thréonine		
Tryptophane		
Tyrosine		
Valine		
Eau	Antibiotique	Substrats énergétiques
Qualité WF1	Sulfate de gentamicine	Glucose
Proteines, hormones et facteurs de croissance		Inositol
Sérum de veau fetal (SVF)		

MATÉRIAUX ET ÉQUIPEMENT NÉCESSAIRES MAIS NON FOURNIS

1. Tubes pour centrifugeuse stériles et flacons de culture en plastique
2. Étuv à CO₂ à 37 °C
3. Centrifugeuse de table
4. Vortex
5. Solution mère de Colcemid, 10 µg/ml
6. Solution de chlorure de potassium, 0,075 M
7. Solution de fixation, méthanol/acide acétique (3:1)

ASSURANCE QUALITÉ

Plusieurs facteurs, y compris la source des échantillons, l'état des cultures et le choix des réactifs, peuvent influencer le résultat obtenu. Il est conseillé de traiter chaque nouveau lot de réactif parallèlement au matériau de référence présentant une activité appropriée connue avant de commencer à utiliser le milieu de façon régulière. Les performances de chaque lot de CHANG Medium BMC ont été testées sur des cultures cliniques de moelle osseuse dans un laboratoire indépendant de cytogénétique clinique, et comparées à celles d'un milieu témoin. Les résultats sont rapportés dans un certificat d'analyses spécifique à chaque lot.

PRÉPARATION

CHANG Medium BMC doit être décongelé la veille dans le réfrigérateur (entre 2 et 8 °C), puis mélangé délicatement pour assurer l'homogénéité. Répartir de façon aseptique 10 ml de milieu dans des flacons de culture stériles et équilibrer à 37 °C pour une utilisation immédiate dans des cultures de moelle osseuse.

Remarque : des cristaux de carbonate de calcium se forment en général dans CHANG Medium BMC. Rien n'indique que la présence de ces cristaux ne compromette les performances du produit.

MODE D'EMPLOI

Préparation des échantillons :

Utiliser 0,5 à 1,0 ml d'aspirat de moelle osseuse contenant de l'héparine sodique. L'héparine de lithium, l'EDTA ou les anticoagulants à base de citrate ne conviennent pas aux études cytogénétiques.

- Si plus de 5 ml d'aspirat de moelle osseuse est prélevé, l'échantillon peut être hémodilué. Isoler la fraction de moelle osseuse de l'échantillon par centrifugation.
- Si l'échantillon est livré dans un milieu de transport, isoler le surnageant par centrifugation puis le prélever. Inoculer à l'aide de la fraction résiduelle de l'aspirat.

Pour plus de détails sur l'utilisation de ces produits, chaque laboratoire doit consulter ses propres procédures et protocoles standard qui ont été spécialement élaborés et optimisés pour chaque établissement médical particulier.

Culture de moelle osseuse :

Identifier tous les flacons de culture avec le nom du patient, le numéro de l'échantillon et le type de culture. Pour chaque échantillon, préparer un flacon contenant :

1. 10,0 ml de CHANG Medium BMC.
2. Équilibrer le flacon à 37 °C avant l'inoculation de l'échantillon.
3. Inoculer 0,5 ml (500 µl) d'échantillon, ou la quantité appropriée suivant la numération leucocytaire, dans chaque flacon contenant 10,0 ml de CHANG Medium BMC pré-équilibré. Ajouter moins d'échantillons si la numération leucocytaire est élevée (> 30 000) ou plus si elle est faible (< 5 000).
4. Incuber le flacon à 37 °C pendant un jour ou deux.

Collecte des cultures :

1. Sortir les cultures de l'étuve et les agiter légèrement pour remettre les cellules en suspension.
2. Transférer le contenu du flacon dans un tube pour centrifugeuse de 15 ml.
3. Ajouter 100 µl de solution mère de Colcemid (10 µg/ml) dans chaque tube.
4. Boucher les tubes et les retourner pour mélanger le contenu.
5. Incuber les tubes à 37 °C pendant 20 minutes.
6. Après l'incubation, centrifuger les tubes pendant 8 minutes à 1 200 tr/min (300 x g).
7. Aspirer délicatement le surnageant de chaque tube.
8. Remettre le culot en suspension en le mélangeant doucement, ou en tapant le fond du tube avec l'index.
9. Ajouter TRÈS LENTEMENT 10 ml de solution hypotonique (0,075 M de chlorure de potassium) à chaque tube tout en le mélangeant au vortex (réglage le plus faible).
10. Laisser les tubes à température ambiante pendant 20 minutes (traitement hypotonique).
11. Centrifuger les tubes pendant 8 minutes à 1 200 tr/min (300 x g).
12. Aspirer le surnageant en laissant environ 1,0 ml de solution hypotonique sur le culot de cellules.
- REMARQUE : prendre garde au matériau fibreux qui pourrait s'étendre du culot de cellules dans le surnageant après la centrifugation. Il pourra être nécessaire de prélever les quelques derniers millilitres de surnageant manuellement et à l'aide d'une pipette Pasteur (sans aspiration à vide) pour éviter d'aspire l'ensemble du culot dans le récipient à déchets.
13. Remettre le culot de cellules en suspension, comme décrit à l'étape 8.

14. Ajouter TRÈS LENTEMENT 10 ml de solution de fixation (méthanol/acide acétique dans une proportion de 3:1) à chaque tube tout en le mélangeant au vortex (réglage le plus faible).

15. Laisser les tubes à température ambiante pendant 20 minutes (première fixation).
16. Répéter les étapes 11 à 13.
17. Ajouter 5 ml de solution de fixation, conformément à l'étape 14.
18. Laisser les tubes à température ambiante pendant 10 minutes (deuxième fixation).
19. Répéter les étapes 16 à 18 (troisième fixation).
20. À ce stade, les culots de cellules fixées peuvent être utilisés immédiatement pour la préparation des lames, conformément au protocole standard du laboratoire, ou conservés au réfrigérateur (entre 2 et 8 °C) pour utilisation ultérieure.

CONSERVATION ET STABILITÉ

CHANG Medium BMC doit être conservé congelé à moins de -10 °C jusqu'à ce qu'il soit prêt à être utilisé. CHANG Medium BMC est stable jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du flacon lorsqu'il est conservé congelé. Après la décongélation, tout produit non entamé peut être réparti dans des aliquotes de travail et recongelé pour une utilisation ultérieure, ou son flacon fermé hermétiquement et conservé entre 2 et 8 °C pendant 30 jours maximum. Protéger de la lumière fluorescente.

PRÉCAUTIONS ET MISES EN GARDE

Ce dispositif est destiné à une utilisation par un personnel formé aux techniques comprenant l'application indiquée pour laquelle le dispositif est prévu.

CHANG Medium BMC contient du SVF et un milieu conditionné de TCG et doit être manipulé en utilisant les précautions d'usage universelles. Le milieu contient un antibiotique (gentamicine) pour réduire le risque de contamination bactérienne, mais des techniques aseptiques doivent toujours être utilisées lors de sa répartition. Ne pas utiliser le milieu s'il n'est pas de couleur rouge.

Collecte des cultures :

1. Sortir les cultures de l'étuve et les agiter légèrement pour remettre les cellules en suspension.
2. Transférer le contenu du flacon dans un tube pour centrifugeuse de 15 ml.
3. Ajouter 100 µl de solution mère de Colcemid (10 µg/ml) dans chaque tube.
4. Boucher les tubes et les retourner pour mélanger le contenu.
5. Incuber les tubes à 37 °C pendant 20 minutes.
6. Après l'incubation, centrifuger les tubes pendant 8 minutes à 1 200 tr/min (300 x g).
7. Aspirer délicatement le surnageant de chaque tube.
8. Remettre le culot en suspension en le mélangeant doucement, ou en tapant le fond du tube avec l'index.
9. Ajouter TRÈS LENTEMENT 10 ml de solution hypotonique (0,075 M de chlorure de potassium) à chaque tube tout en le mélangeant au vortex (réglage le plus faible).
10. Laisser les tubes à température ambiante pendant 20 minutes (traitement hypotonique).
11. Centrifuger les tubes pendant 8 minutes à 1 200 tr/min (300 x g).
12. Aspirer le surnageant en laissant environ 1,0 ml de solution hypotonique sur le culot de cellules.

REMARQUE : prendre garde au matériau fibreux qui pourrait s'étendre du culot de cellules dans le surnageant après la centrifugation. Il pourra être nécessaire de prélever les quelques derniers millilitres de surnageant manuellement et à l'aide d'une pipette Pasteur (sans aspiration à vide) pour éviter d'aspire l'ensemble du culot dans le récipient à déchets.

13. Remettre le culot de cellules en suspension, comme décrit à l'étape 8.

ESPAÑOL**INDICACIÓN DE USO**

El CHANG Medium BMC está diseñado para ser utilizado en cultivos clínicos de médula ósea humana para cariotipado y otras pruebas genéticas de diversos trastornos hematológicos.

DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO

El CHANG Medium BMC es un medio listo para usar que se compone del RPMI Medium 1640, con FBS, tampon HEPES, L-glutamina, medio acondicionado con tumor de células gigantes (GCT) y sulfato de gentamicina. El CHANG Medium BMC se ha optimizado para fomentar una adhesión celular eficiente y el crecimiento de las células de la médula ósea sometidas a análisis citogenético. No es necesario añadir ningún componente aparte de cultivar la médula ósea.

COMPONENTES

Aminoácidos	Proteínas, hormonas y factores de crecimiento	Vitaminas y oligoelementos
Arginina	Asparagina	Nicotinamida
Asparagina	Acido aspártico	Riboflavina
Acido aspártico	Cistina	Tiamina
Cisteína	Glutamina	Acido pantoténico
Glutamina	Acido glutámico	Cobalamina
Acido glutámico	Cítrica	Piroxidina
Glicina	Acido glutámico	Acido aminobenzoico
Histidina	Hidroxiprolina	Sales e iones
Acido glutámico	Isoleucina	Cloruro sódico
Acido glutámico	Leucina	Cloruro de colina
Glicina	Lisina	Cloruro potásico
Histidina	Melionina	Sulfato magnesio
Hidroxiprolina	Fenilalanina	Fosfato sódico
Isoleucina	Prolina	Nitrato calcico
Leucina	Treonina	Sistemas tampon
Lisina	Triptófano	Bicarbonato sódico
Melionina	Tirosina	HEPES
Fenilalanina	Valina	Substratos energéticos
Prolina		Agua
Serina		Antibiótico
Treonina		Calidad de agua
Triptófano		Sulfato de gentamicina
Tirosina		
Valina		

MATERIAL Y EQUIPO NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

1. Tubos de centrifuga estériles de plástico y frascos de cultivo
2. Incubadora de CO₂ a 37 °C
3. Centrifuga de mesa
4. Agitador vortex
5. Solución madre Colcemid, 10 µg/ml
6. Solución de cloruro potásico, 0,075 M
7. Solución fijadora, metanol: ácido acético (3:1)

GARANTÍA DE CALIDAD

Diversos factores, entre ellos la fuente de las muestras, las condiciones de cultivo y la selección de los reactivos, pueden influir en el resultado obtenido. Se aconseja a los usuarios que procesen cada nuevo lote de reactivo en paralelo con un material de referencia de actividad idónea y conocida antes de su adopción sistemática. El rendimiento de cada lote del CHANG Medium BMC se ha analizado frente a un medio de control en cultivos clínicos de médula ósea en un laboratorio de citogenética clínica independiente. Los resultados se notifican en un certificado de análisis específico del lote.

PREPARACIÓN PARA EL USO

El CHANG Medium BMC se descongelará durante la noche en el frigorífico (2-8 °C) y luego se mezclará con suavidad para garantizar su homogeneidad. Dispensar en condiciones asepticas 10 ml del medio en frascos de cultivo estériles y equilibrar a 37 °C para su uso inmediato en los cultivos de médula ósea.

Nota: En el CHANG Medium BMC se forman con frecuencia cristales de oxalato cálcico. No se ha demostrado que la presencia de estos cristales merme el rendimiento del producto.

INSTRUCCIONES DE USO

Preparación de la muestra:

Utilizar de 0,5 a 1,0 ml de médula ósea aspirada en un tubo de heparina sódica. La heparina de litio, el EDTA y los anticoagulantes de citrato no resultan adecuados para estudios citogenéticos.

- Si se reciben más de 5 ml de aspirado de médula ósea, la muestra podría estar hemodiluida. Centrifugar la muestra para aislar la fracción de médula ósea.
- Si la muestra llega en un medio de transporte, centrifugarla y eliminar el medio de transporte (sobrenadante). Inocular utilizando la fracción remanente del aspirado.

Para más detalles sobre la utilización de estos productos, consultar los protocolos y los procedimientos de su propio laboratorio, que se habrán desarrollado y optimizado específicamente de acuerdo con su programa médico particular.

Cultivo de médula ósea:

Etiquetar todos los recipientes de cultivo con el nombre del paciente, el número de la muestra y el tipo de cultivo. Para cada muestra, preparar un frasco que contenga:

1. 10,0 ml del CHANG Medium BMC.
2. Equilibrar el frasco a 37 °C antes de inocular la muestra.
3. Inocular 0,5 ml (500 µl) de muestra, o la cantidad adecuada en función del recuento leucocitario (RL), en cada frasco que contenga 10,0 ml del CHANG Medium BMC preequilibrado. Añadir menos cantidad de muestra si el RL es alto (>30.000) o más si es bajo (<5.000).
4. Incubar el frasco a 37 °C durante 1-2 días.

Cosecha de los cultivos:

1. Sacar los cultivos de la incubadora y balancearlos con suavidad para resuspender las células.
2. Transferir el contenido del frasco a un tubo de centrifuga de 15 ml.
3. Añadir 100 µl de la solución madre Colcemid (10 µg/ml) a cada tubo.
4. Tapar los tubos y mezclar mediante inversión.
5. Incubar el frasco a 37 °C durante 20 minutos.
6. Despues de la incubación, colocar los tubos de centrifuga durante 8 minutos a 1200 rpm (300 g).
7. Aspirar con cuidado el sobrenadante de cada tubo.
8. Resuspender el sedimento celular mezclando o golpeando con suavidad el fondo del tubo con el dedo índice.
9. Añadir MUY LENTAMENTE 10 ml de solución hipotónica (cloruro potásico 0,075 M) a cada tubo mientras se agita en el vórtex (con el ajuste más bajo).
10. Dejar reposar los tubos a temperatura ambiente durante 20 minutos (tratamiento hipotónico).
11. Centrifugar los tubos durante 8 minutos a 1200 rpm (300 g).
12. Aspirar el sobrenadante dejando aproximadamente 1,0 ml de solución hipotónica por encima del sedimento celular.
- NOTA: Tenga cuidado con el material fibroso que puede extenderse desde el sedimento celular hasta el sobrenadante después de la centrifugación. Para evitar la aspiración de todo el sedimento celular en el recipiente de desecho, los últimos mililitros de sobrenadante se deben a veces aspirar a mano (sin aplicar vacío) con una pipeta Pasteur.
13. Resuspender el sedimento celular como se describe en el paso 8.
14. Añadir MUY LENTAMENTE 10 ml de la solución fijadora de metanol y ácido acético (3:1) a cada tubo mientras se agita en el vórtex (con el ajuste más bajo).
15. Dejar reposar los tubos a temperatura ambiente durante 20 minutos (primera fijación).
16. Repetir los pasos 11-13.
17. Añadir 5 ml de fijador como en el paso 14.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

El CHANG Medium BMC debe conservarse congelado a menos de -10 °C hasta que esté listo para uso. Si se conserva congelado, el CHANG Medium BMC se mantiene estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del frasco. Después de la descongelación, el producto sobrante no utilizado se puede dispensar en porciones asepticas de trabajo y volver a congelar para su uso posterior o bien cerrar herméticamente y conservar a 2-8 °C durante 30 días como máximo. Proteger de la luz fluorescente.

PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

Este producto lo debe utilizar personal con formación en procedimientos que incluyan el uso previsto del producto.

El CHANG Medium BMC contiene medio acondicionado con FBS y GCT y se debe manipular con las precauciones universales de laboratorio. El medio contiene un antibiótico (gentamicina) para reducir la posible contaminación bacteriana, pero siempre que se dispense el medio se utilizarán técnicas asepticas. No utilizar ningún medio que no sea de color rojo.

INDICAÇÃO DE UTILIZAÇÃO

O CHANG Medium BMC destina-se a ser utilizado em cultura primária de culturas de medula óssea humana clínicas para cariotipagem e outros testes genéticos de várias doenças hematológicas.

DESCRÍÇÃO DO DISPOSITIVO

O CHANG Medium BMC é um meio pronto a utilizar constituído por RPMI Medium 1640 com FBS, tampão HEPES, L-glutamina, Giant Cell Tumor (GCT) Conditioned Medium e sulfato de gentamicina. O CHANG Medium BMC foi otimizado de modo a suportar a ligação e o crescimento eficientes de células da medula óssea para análise citogenética. Sem adição de quaisquer componentes antes de a cultura de medula óssea ser necessária.

COMPONENTES

Aminoácido	Proteínas, hormonas e fatores de crescimento	Vitaminas e oligoelementos
Arginina		
Asparagina		
Ácido ascártico	Soro bovino fetal (FBS)	Acido folico
Cistina		Nicotinamida
Glutamina		Riboflavina
Ácido glutâmico	Indicador de pH	Acido pantoténico
Glicina	Vermelho de fenol	Tiamina
Histidina		Acido pantoténico
Hidroxiprolina	Sais e iões	Acido pantoténico
Isoleucina	Cloreto de sódio	Acido pantoténico
Leucina	Cloreto de colina	Acido pantoténico
Lisina	Cloreto de potássio	Outro
Metionina	Sulfato de magnésio	Giant cell tumor conditioned medium (GCT-CM)
Fenilalanina	Fosfato de sódio	Glutatona
Prolina	Nitrito de cálcio	Biotina
Serina	Tampões	
Treonina	Bicarbonato de sódio	Substratos energéticos
Triptófano	HEPES	
Tirosina		Glucose
Valina		Inositol
Áqua	Antibiótico	
Qualidade		
WFI (água p/ preparações injetáveis)	Sulfato de gentamicina	

MATERIAIS E EQUIPAMENTO NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS

1. Tubos de centrifugadora estéreis de plástico e frascos de cultura
2. Incubadora de CO₂ a 37 °C
3. Centrifugadora de bancada
4. Misturador de vórtice
5. Colcemid Stock Solution, 10 µg/ml
6. Solução de cloreto de potássio, 0,075 M
7. Solução de fixação, metanol:ácido acético (3:1)

GARANTIA DE QUALIDADE

O resultado obtido pode ser influenciado por vários fatores que incluem a origem dos espécimes, as condições de cultura e a seleção dos reagentes. Antes da adoção em utilização de rotina, os utilizadores são aconselhados a analisar cada novo lote de reagente em paralelo com material de referência de atividade adequada conhecida. O desempenho de cada lote do CHANG Medium BMC foi testado em culturas clínicas de medula óssea num laboratório de citogenética clínica por comparação com um meio de controlo. Os resultados estão descritos no certificado de análise específico de cada lote.

PREPARAÇÃO PARA UTILIZAÇÃO

O CHANG Medium BMC deve ser descongelado de um dia para o outro no frigorífico (2 °C–8 °C) e depois misturado suavemente para assegurar a homogeneidade. Dispense assepticamente 10 ml de meio para frascos de cultura estéreis e deixe atingir os 37 °C para utilização imediata em culturas de medula óssea.

Nota: A formação de cristais de carbonato de cálcio é frequente no CHANG Medium BMC. A presença destes cristais não demonstrou causar qualquer efeito prejudicial no desempenho do produto.

INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

Preparação da amostra:

Utilize 0,5 ml a 1,0 ml de aspirado de medula óssea com heparina de sódio. Os anticoagulantes heparina de litio, EDTA ou citratos não são adequados para estudos citogenéticos.

- Caso se receba mais de 5 ml de aspirado de medula óssea, a amostra pode ficar hemodiluída. Centrifuge o espécime, para isolar a fração da medula óssea.
- Se o espécime chegar em meio de transporte, centrifuge a amostra e retire o meio de transporte (sobrenadante). Inocule utilizando a restante fração do aspirado.

CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE

O CHANG Medium BMC deve ser conservado congelado a uma temperatura inferior a -10 °C até estar pronto para utilizar. O CHANG Medium BMC é estável até ao prazo de validade indicado no rótulo do frasco, desde que conservado congelado. Após a descongelação, qualquer produto não usado pode ser dispensado em áliquots de trabalho e recongelado para utilização posterior ou bem tapado e conservado entre 2 °C e 8 °C durante um período de até 30 dias. Proteger da luz fluorescente.

PRECAUÇÕES E ADVERTÊNCIAS

Este dispositivo destina-se a ser utilizado por pessoal com formação em técnicas que incluem a aplicação indicada à qual se destina o dispositivo.

O CHANG Medium BMC contém meio condicionado com FBS e GCT e deve ser manuseado utilizando as precauções laboratoriais universais. O meio contém um antibiótico (gentamicina) para reduzir o potencial de contaminação bacteriana; contudo, ao dispensar o meio, devem ser sempre utilizadas técnicas asséticas. Não utilize qualquer meio que não tenha cor vermelha.

4.

Incube o frasco de cultura a 37 °C durante 1–2 dias.

Colheita de culturas:

1. Retire as culturas da incubadora e gire-as suavemente para ressuspender as células.
2. Transfira o conteúdo do frasco de cultura para um tubo de centrifugadora de 15 ml.
3. Adicione 100 µl de solução de stock Colcemid (10 µg/ml) a cada tubo.
4. Tape os tubos e misture, invertendo-os.
5. Incube os tubos a 37 °C durante 20 minutos.
6. Após a incubação, centrifuge os tubos durante 8 minutos a 1200 rpm (300 x g).
7. Aspire o sobrenadante de cada tubo com cuidado.
8. Ressuspenda o pellet de células, misturando suavemente ou batendo no fundo do tubo com o dedo indicador.
9. Adicione MUITO LENTAMENTE 10 ml de solução hipotônica (cloreto de potássio 0,075 M) a cada tubo durante a mistura no misturador de vórtice (na definição mais baixa).
10. Deixe os tubos repousarem à temperatura ambiente durante 20 minutos (tratamento hipotônico).
11. Centrifuge os tubos durante 8 minutos a 1200 rpm (300 x g).
12. Aspire o sobrenadante, deixando cerca de 1,0 ml de solução hipotônica acima do pellet de células.

NOTA: Tenha atenção ao material fibroso que pode estender-se a partir do pellet de células para cima, para o interior do sobrenadante após a centrifugação. Os últimos mililitros de sobrenadante podem ter de ser removidos à mão com uma pipeta de Pasteur (não utilizar aspiração com vácuo) para evitar aspirar todo o pellet de células para o recipiente de resíduos.

13. Ressuspenda o pellet de células tal como descrito no passo 8.
14. Adicione MUITO LENTAMENTE 10 ml de fixador de 3:1 de metanol:ácido acético a cada tubo durante a mistura no misturador de vórtice (na definição mais baixa).

15. Deixe os tubos repousarem à temperatura ambiente durante 20 minutos (primeira fixação).

16. Repita os passos 11 a 13.
17. Adicione 5 ml de fixador, tal como no passo 14.
18. Deixe os tubos repousarem à temperatura ambiente durante 10 minutos (segunda fixação).
19. Repita os passos 16 a 18 (terceira fixação).
20. Neste ponto, os pellets de células fixadas podem ser utilizados imediatamente para a preparação de lâminas de acordo com o protocolo padrão do laboratório ou conservados no frigorífico (2 °C–8 °C) para utilização futura.

ΕΛΛΗΝΙΚΑ**ΕΝΔΕΙΞΗ ΧΡΗΣΗΣ**

To CHANG Medium BMC προσφέρεται για χρήση στην πρωτογενή καλλιέργεια κλινικών καλλιέργειών ανθρώπου μελεύον των οστών για καρυοτυπούση και άλλες γενετικές εξετάσεις για διάφορες αιματολογικές διαταραχές.

ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΗΣ ΣΥΣΚΕΥΗΣ

To CHANG Medium BMC είναι ένα έτοιμο για χρήση μέσο που αποτελείται από RPMI Medium 1640, με FBS, ρυθμιστικό διάλυμα HEPES, L-γλουταμίνη, Giant Cell Tumor (GCT) Conditioned Medium και θειική γενταμικίνη. To CHANG Medium BMC έχει βελτιστοποιηθεί για την υποστήριξη της αποτελεσματικής κυτταρογένετικης προσπόλλησης και ανάπτυξης κυττάρων μελεύον των οστών για κυτταρογενετική ανάλυση. Έναν απατείται προσθήκη οποιουδήποτε συστατικού πριν από την καλλιέργεια του μελεύον των οστών.

ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ

Ανιούντ	Πωρώνες, ορύσματα και αιμοβολής παραδόντες	Αντιβιοτικό Θειική γενταμικίνη
Αργινίνη		Βιταμίνες και γεννοστικές
Ασπαραγίνη	Ορός από έμβρυο βοσκεδίου (FBS)	Φιλούμενο οξύ
Αcidο ασ्पαρ्टικό		Νικοτιναμίδη
Αιταΐνη	Γλουταμικό οξύ	Ριβοφλαβίνη
Αίδηλη	Γλουταμικό οξύ	Θειαΐνη
Αιδροξιπρόλινη	Δείκτης pH	Παντοθεινούκ οξύ
Αισολεύκινη	Ερυθρή της φαινόλης	Κοβαλαρίνη
Αλεκινή	Χλωριούχο νάτριο	Πυροδόξην
Αυστινή	Χλωριούχος χολίνη	Αιμοβολεζούκ οξύ
Μεθειονίνη	Χλωριούχο κάλιο	Άλλα
Φαινουλανίνη	Θειικό μαγνησίου	Giant cell tumor conditioned medium (GCT-CM)
Προίκην	Φωσφορικό νάτριο	Γλουταεΐδιόνη
Σερίνη	Νιτρικό αιθερείσιο	Βιοτίνη
Θρεονίνη		
Τρυποφάνη	Ρυθμωτικά διάλυμα	
Τυροσίνη	Διπανθρωπικό νάτριο	
Βαλίνη	HEPES	Ενεργειακά παστορώματα
Νερό		Γλυκοζή Ινσοτόνη
Ποιότητα ενέσιμου ύδατος (WFI)		

ΑΠΑΙΤΟΥΜΕΝΑ ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ ΝΟΥ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ

1. Πλαστικά αποστειρωμένα σωληνάρια φυγόκεντρου και μπουκαλάκια καλλιέργειας
2. Επωαστήρας CO₂ στους 37 °C
3. Επιπραπτή φυγόκεντρος
4. Αναμύκητης στροβίλισμού
5. Αποθεματικό διάλυμα καλλιέργειας, 10 µg/ml
6. Διάλυμα χλωριούχου καλίου, 0,075 M
7. Διάλυμα μονιμοποίησης, μεθανόλη:οξικό οξύ (3:1)

ΔΙΑΣΦΑΛΙΣΗ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ

To αποτέλεσμα που λαμβάνεται μπορεί να επηρεαστεί από διάφορους παράγοντες, όπως η προέλευση των δειγμάτων, οι συνήθεις καλλιέργειας και η επιλογή αντιδραστήρων. Προτείνεται οι χρήστες να αναλύσουν κάθε απειρίδα αντιδραστήρων παράλληλα με υλικό αναφοράς γνωστής, κατάλληλη δραστικότητα, πριν από την υιοθέτηση σε χρήση ρουτίνας. Κάθε παρίδα CHANG Medium BMC έχει ελεγχθεί για την απόδοσή της σε κλινικές καλλιέργειες μελεύον των οστών σε ανέργητο εργαστήριο κλινικής κυτταρογενετικής σε σύγκριση με ένα μέσο έλεγχου. Τα αποτελέσματα αναφέρονται σε Πιστοποιητικό Ανάλυσης ειδικό από παρτίδα.

ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΧΡΗΣΗΣ

To CHANG Medium BMC θα πρέπει να αποψύχεται κατά τη διάρκεια της νύχτας στο ψυγείο (2-8 °C) και στη συνέχεια να αναμηγνύεται ήπια, ώστε να διασφαλίζεται η ψυγεία του. Διανέμετε με σάπτης συνθήκες 10 mL μέσου σε αποστειρωμένα μπουκαλάκια καλλιέργειας και ισορροπήστε τους 37 °C για άμεση χρήση σε καλλιέργειες μελεύον των οστών.

ΕΛΛΗΝΙΚΑ

Σημείωση: Στο CHANG Medium BMC σχηματίζονται συγνά κρύσταλλα ανθρακικού ασβεστού. Η παρουσία αυτών των κρυστάλλων δεν έχει αποδειχθεί ότι προκαλεί οποιαδήποτε αρνητική επίδραση στην απόδοση του προϊόντος.

ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ

Προετοιμασία δειγμάτων:

Χρησιμοποιήστε 0,5 έως 1,0 mL υλικού αναρρόφησης μελεύον των οστών με ηπαρινό νάτριο. Η πηρίνη λιθίου, η EDTA ή τα κιτρικά αντιπρικτικά είναι απαλάληρα για κυτταρογενετικές μελεύτες.

- Εάν ληφθούν περισσότερα από 5 mL του υλικού αναρρόφησης του μελεύον των οστών, το δείγμα μπορεί να είναι αραιωμένο με αύρια. Φυγοκεντρίστε το δείγμα για να απομονώσετε το κάλαμα του μελεύον των οστών.
- Εάν το δείγμα παραληφθεί σε θέρμανση ή υγρό μεταφοράς, υφοκεντρίστε το δείγμα και αφαιρέστε το μέσο μεταφοράς (υπερκρύψαμενο). Ενοφθαλμίστε χρησιμοποιώντας το υπόλοιπο κλάσμα του υλικού αναρρόφησης.

Για πρόσθετες λεπτομέρειες σχετικά με τη χρήση των προϊόντων αυτών, κάθε εργαστήριο θα πρέπει να συμβουλεύεται τις δικές του εργαστηριακές διαδικασίες και πρωτόκολλα, τα οποία έχουν αναπτυχθεί κατέστρωσης ειδικά για το δικό του ιατρικό πρόγραμμα.

- Καλλιέργεια μελεύον των οστών:
- Επισημάνετε όταν τα δοχεία καλλιέργειας με το όνομα του ασθενούς, τον αριθμό δειγμάτου και την ημέρα που αναγράφεται στην επικέτα της φιάλης, όταν φυλαρέστη σε καλλιέργεια μελεύον των οστών. Τα δοχεία της καλλιέργειας πρέπει να διεμένουν σε θέρμανση 37 °C για 20 λεπτά.

Επιπλέον, η εργαστήρια πρέπει να διατηρήσουν την προετοιμασία σε θέρμανση 37 °C για 20 λεπτά. Μετά την επώαση, φυγοκεντρίστε τα σωληνάρια για 8 λεπτά στις 1.200 s.α. (300 x g).

- Αναρροφήστε τη προετοιμασία υπερκρύψαμενο από κάθε σωληνάριο.
- Επαναλάβτε την εναιώρηση του κυτταρικού συστατικού αναμεγνύοντας με ηπίες κινήσεις ή την ίνασην το κάτω μέρος του σωληνάριου με το δείπτη του χειρός.

• Προσθέτετε ΠΟΛΥ ΑΡΓΑ 10 mL υποτονικό διάλυμα (0,075 M χλωριούχο καλίου) σε κάθε σωληνάριο ένσωσης αναδένετε με αναμίκτη στροβίλισμο (στη χρημάτιστρη ρύθμηση).

- Αφήστε τα σωληνάρια να παραμείνουν σε θερμοκρασία δωματίου για 20 λεπτά (επεξεργασία με υποτονικό διάλυμα).
- Φυγοκεντρίστε τα σωληνάρια για 8 λεπτά στις 1.200 s.α. (300 x g).

ΕΛΛΗΝΙΚΑ**ΕΝΔΕΙΞΗ ΧΡΗΣΗΣ**

Προετοιμασία δειγμάτων:

Χρησιμοποιήστε το ινώδες υλικό που μπορεί να επεκτείνεται από το κυτταρικό συστατικό προϊόντος με πιπέτα Ιαστέρ (χωρίς υπέρκρυψη) ή αναρρόφηση κατόπιν του πυρηνικού στροβίλου (πυρηνικό οξές).

3. Επαναλάβτε την εναιώρηση του κυτταρικού συστατικού που παραπέμπεται στη βήμα 8.

4. Προσθέτε ΠΟΛΥ ΑΡΓΑ 10 mL διάλυμα μενταλόπατος προϊόντος παραπέμπεται στη βήμα 8.

5. Η προσθήτη στη βήμα 8 μπορεί να παραπέμπεται σε αναμόσημα στην επιστημόνευση πλακών.

6. Επαναλάβτε τη βήμα 8 με την προσθήτη στη βήμα 8.

7. Επαναλάβτε τη βήμα 8 με την προσθήτη στη βήμα 8.

8. Επαναλάβτε τη βήμα 8 με την προσθήτη στη βήμα 8.

9. Επαναλάβτε τη βήμα 8 με την προσθήτη στη βήμα 8.

10. Επαναλάβτε τη βήμα 8 με την προσθήτη στη βήμα 8.

11. Επαναλάβτε τη βήμα 8 με την προσθήτη στη βήμα 8.

12. Αναρροφήστε το υπερκρύψαμενο από τη βήμα 8 με την προσθήτη στη βήμα 8.

13. Επαναλάβτε τη βήμα 8 με την προσθήτη στη βήμα 8.

14. Προσθέτε ΠΟΛΥ ΑΡΓΑ 10 mL διάλυμα μενταλόπατος προϊόντος παραπέμπεται στη βήμα 8

INDICATIE VOOR GEBRUIK

CHANG Medium BMC is bedoeld voor gebruik in de primaire kweek van klinische menselijke beenmergkweken voor karyotypering en andere genetische testen van diverse hematologische stoornissen.

BESCHRIJVING VAN HET HULPMIDDEL

CHANG Medium BMC is een kant-en-klaar medium bestaande uit RPMI Medium 1640 met FBS, HEPES buffer, L-glutamine, Giant Cell Tumor (GCT) geconditioneerd medium en gentamicinsulfaat. CHANG Medium BMC is geoptimaliseerd ter ondersteuning van een efficiënte celbescheling en groei van beenmergcellen voor cytogenetische analyse. Toevoeging van componenten is niet vereist voordat het beenmerg op kweek wordt gezet.

COMPONENTEN

Aminozuren	Eiwitten, hormonen en groefactoren	Vitamines en sporenlampen
Arginine	Foetaal	Foliumzuur
Asparagine	runderserum (FBS)	Nicotinamide
Asparaginezuur		Riboflavin
Cystine	pH-indicator	Thiamine
Glutamine	Fenolrood	Pantotheenzuur
Glutaminezuur		Cobalamine
Glycine	Zouten en ionen	Pyridoxine
Histidine	Natriumchloride	Aminobenzoëzuur
Hydroxyproline	Cholinechloride	
Isoleucine	Kaliumchloride	Overige
Leucine	Magnesiumsulfaat	Giant Cell Tumor
Lysine	Natriumfosfaat	geconditioneerd
Methionine	Calciumnitraat	medium (GCT-CM)
Fenylalanine	Buffers	Glutathion
Proline	Natriumbicarbonaat	Biotine
Serine	HEPES	Energiesubstraten
Treonine		Glucose
Tryptolofoan		Inositol
Tyrosine		
Valine	Antibioticum	
Water	Gentamicinesulfaat	
Farmaceutisch kwaliteitswater (WFI)		

VEREISTE MAAR NIET MEEGELEVERDE MATERIALEN EN APPARATUUR

1. Steriele kunststof centrifugeerbuisjes en kweekflessen
2. CO₂-incubator bij 37 °C
3. Tafelcentrifuge
4. Vortexmenger
5. Colcemide-standaardoplossing, 10 µg/ml
6. Kaliumchlorideoplossing, 0,075 M
7. Fixeroplossing, methanol:azijnzuur (3:1)

KWALITEITSBORING

Diverse factoren, waaronder de bron van de monsters, de kweekomstandigheden en de selectie van reagencia, kunnen van invloed zijn op het verkregen resultaat. Gebruikers wordt aangeraden elke nieuwe reagensbatch parallel met het referentiemateriaal met bekende geschikte activiteit te gebruiken voordat het routinematisch wordt gebruikt. De prestaties van elke partij CHANG Medium BMC zijn getest op klinische beenmergkweken in een onafhankelijk klinisch cytogenetisch laboratorium en vergeleken met een controlemedium. De resultaten worden vermeld op een partijspecifiek analysecertificaat.

VOORBEREIDING OP HET GEBRUIK

Laat CHANG Medium BMC een nacht in de koelkast (bij 2-8 °C) ontdoen en meng daarna voorzichtig voor een goede homogeniteit. Breng op aseptische wijze 10 ml medium over in steriele kweekflessen en equilibrer tot 37 °C, waarna het direct kan worden gebruikt voor beenmergkweken.

NB: Vaak vormen er zich calciumcarbonaatkristallen in CHANG Medium BMC. Uit onderzoek is gebleken dat de aanwezigheid van deze kristallen geen nadelige invloed heeft op de prestaties van het product.

GEBRUIKSAANWIJZING

Monsterpreparatie:

Gebruik 0,5 tot 1,0 ml met natrium gehepariniseerd beenmergspiraat. Lithiumheparine, EDTA of citraatanticoagulantien zijn niet geschikt voor cytogenetisch onderzoek.

- Als meer dan 5 ml beenmergspiraat wordt ontvangen, kan er sprake zijn van hemodilutié van het monster. Centrifugeer het monster om de beenmergraciale te isoleren.
- Als het monster in transportmedium wordt ontvangen, moet u het monster centrifugeren en het transportmedium (*supernatant*) verwijderen. Incubeer met behulp van de resterende aspiratiefractions.

Voor aanvullende informatie over het gebruik van deze producten dienen alle laboratoria hun eigen laboratoriumprocedures en -protocollen te raadplegen die speciaal zijn ontwikkeld en geoptimaliseerd voor uw individueel medisch programma.

Beenmergkweek:

Plak op alle kweekflessen een label met daarop de naam van de patiënt, het monsternummer en het kweektype. Prepareer voor elk monster een fles met daarin:

1. 10,0 ml CHANG Medium BMC.
2. Equilibreer de fles tot 37 °C voordat u het monster incubeert.
3. Incubeer in elke fles met 10,0 ml gepre-equilibreerde CHANG Medium BMC 0,5 ml (500 µl) van het monster of de juiste hoeveelheid afhankelijk van de telling van het aantal witte bloedcellen (WBC). Voeg minder van het monster toe als de WBC-telling hoog is (> 30.000) of meer van het monster als de WBC-telling laag is (< 5000).
4. Incubeer de fles gedurende 1 à 2 dagen bij 37 °C.

Oogsten van de kweeken:

1. Haal de kweken uit de incubator en draai ze voorzichtig rond om de cellen te resuspenderen.
2. Breng de inhoud van de fles over naar een centrifugeerbuisje van 15 ml.
3. Voeg aan elke buisje 100 µl standaardcolcemide (10 µg/ml) toe.
4. Sluit de buisjes met een dop af en meng de inhoud door de buisjes om te keren.
5. Incubeer de buisjes gedurende 20 minuten bij 37 °C.
6. Centrifugeer de buisjes na incubatie gedurende 8 minuten op 1200 omw/min (300 x g).
7. Aspireer het supernatant voorzichtig uit elk buisje.
8. Resuspendeer de celpellet door deze voorzichtig te mengen, of door met de wijsvinger tegen de onderkant van het buisje te tikken.
9. Voeg ZEER LANGZAAM aan elk buisje 10 ml hypotonische oplossing (0,075 M kaliumchloride) toe, terwijl u het met de vortexmenger mengt (op de laagste stand).
10. Laat de buisjes gedurende 20 minuten bij kamertemperatuur staan (hypotonie behandeling).
11. Centrifugeer de buisjes gedurende 8 minuten op 1200 omw/min (300 x g).
12. Aspireer het supernatant en laat ca. 1,0 ml hypotonische oplossing boven de celpellet staan.
- NB: Wees voorzichtig met vezelig materiaal dat na het centrifugeren vanuit de celpellet tot in het supernatant kan reiken. Het kan nodig zijn om de laagste paar ml supernatant handmatig met een pasteurpijp te verwijderen (zonder vacuüm-aspiratie) om aspiratie van de gehele celpellet in de afvalbak te voorkomen.
13. Resuspendeer de celpellet zoals beschreven in stap 8.
14. Voeg ZEER LANGZAAM aan elk buisje 10 ml van de fixeroplossing 3:1 methanol:azijnzuur toe, terwijl u het met de vortexmenger mengt (op de laagste stand).

NB: Vaak vormen er zich calciumcarbonaatkristallen in CHANG Medium BMC. Uit onderzoek is gebleken dat de aanwezigheid van deze kristallen geen nadelige invloed heeft op de prestaties van het product.

ČEŠTINA**INDIKACE PRO POUŽITÍ**

CHANG Medium BMC je určeno k použití při primkulovaci klinických kultur lidské kostní dřeně ke karyotypizaci a jiným genetickým testům na různé hematologické poruchy.

POPS PROSTŘEDKU

CHANG Medium BMC je médium připravené k použití, které se skládá z média RPMI Medium 1640 s FBS, puřem HEPES, L-glutaminem, kondicionovaným médiem Giant Cell Tumor (GCT) Conditioned Medium a gentamicin-sulfátem. CHANG Medium BMC bylo optimálně upraveno na podporu efektivního zachycení buněk a růstu buněk kostní dřeně k cytogenetické analýze. Před kultivací kostní dřeně není nutné přidávat žádné složky.

SLOŽKY

Aminokyselina	Proteiny, hormony a růstové faktory	Vitaminy a stopové prvky
Arginin	Fetální bovinní sérum (FBS)	Kyselina listová Nikotinamid Riboflavin
Asparagin		Indikátor pH Thiamin
Kyselina asparagová		Kyselina pantoténová Kovalamin Pyridoxin
Cystin		Kyselina aminobenzoová
Glutamin	Soli a iomyt Chlорid sodný Cholinolitid	Ostatní Kondicionánové médium Giant Cell Tumor Conditioned Medium (GCT-CM)
Cystein	Chlорid draselný Síran hořčičný Fosforečný sodný Dusičnan vápenatý	
Histidin	Chlordin sodný Chlordin draselný	
Hydroxyprolin		
Isoleucin		
Leucin		
Lysin		
Methionin		
Fenylalanin		
Prolin	Pufry Hydrogenuhličitan sodný HEPES	
Serin		
Threonin		
Tryptofan		
Tyrosin		
Valin	Antibiotikum Gentamicin-sulfát	Energetické substráty Glukóza Inositol
Voda		
V kvalitě vody		
pro injekci		

POTŘEBNÉ NEDODÁVANÉ MATERIAŁY A VYBAVENÍ

1. Plastové sterilní centrifugační zkumavky a kultivační lahve
2. CO₂ inkubátor nastavený na teplotu 37 °C
3. Stolní centrifuga
4. Třepáka vortex
5. Zásobní roztok Colcemid, 10 µg/ml
6. Roztok chlordin draselného, 0,075 M
7. Fixační roztok methanol : kyselina octová (3 : 1)

ZAJÍŠTĚNÍ KVALITY

Dosažené výsledky může ovlivnit několik faktorů včetně zdroje vzorku, podmínek kultivace a výběru reagencii. Doporučujeme uživatelům, aby každou novou sarži reagencie před přijetím k rutinnímu používání zpracovávali paralelně s referenčním materiálem o známé odpovídající aktivitě. Účinnost každé sarže média CHANG Medium BMC byla otestována na klinických kulturách kostní dřeně nezávislou klinickou cytogenetickou laboratoří v porovnání s kontrolním médiem. Výsledky jsou uvedeny v analytickém certifikátu k příslušné sarži.

PŘÍPRAVA K POUŽITÍ

CHANG Medium BMC je třeba rozmrazit přes noc v chladničce (2-8 °C) a potom jemným promícháním zajistit jeho homogenitu. Asepticky nadávkujte 10 ml média do sterilních kultivačních lahvi a ekvilibrujte na 37 °C k okamžitému použití kultivaci kostní dřeně.

Poznámka: V médiu CHANG Medium BMC se běžně tvorí krystaly uhličitanu vápenatého. Nebylo prokázáno, že by přítomnost těchto krystalů měla jakýkoli negativní účinek na funkci výrobku.

INOVATION

NÁVOD K POUŽITÍ

Příprava vzorku:

Použijte 0,5 až 1,0 ml aspirátu kostní dřeně s heparinem sodným. Heparin lithný, EDTA ani citrátová antikoagulancia nejsou pro cytogenetická vyšetření vhodné.

- Pokud dostanete více než 5 ml aspirátu kostní dřeně, možilo dříti k hemodilutié vzorku. Odstředěním izoluje frakci kostní dřeně vzorku.
- Pokud vzorek dostanete v transportním médiu, odstředěte ho a odstraňte transportní médium (supernatant). Inkolujejte při použití zbyvající frakce aspirátu.

Další informace o použití této výrobku každá laboratoř získá ve vlastních laboratorních metodách a protolech vypracovaných a optimizovaných specificky pro její konkrétní zdravotnický program.

Kultivace kostní dřeně:

Všechny kultivační nádoby označte jménem pacientky, číslem vzorku a typem kultury. Přípravte pro každý vzorek kultivační lahve obsahující:

1. 1,0 ml CHANG Medium BMC.
2. Před inkulací vzorku lahve ekvilibrujte na 37 °C.
3. Každou lahve s obsahem 10,0 ml předem ekvilibrovánoho média CHANG Medium BMC inkolujite 0,5 ml (500 µl) vzorku nebo jiný vhodný objem v závislosti na počtu leukocytů. Přidejte méně vzorku, pokud je počet leukocytů vysoký (> 30 000), nebo více, pokud je počet leukocytů nízký (< 5 000).
4. Lahve inkubujte 1-2 dny při teplotě 37 °C.

Sběr kultur:

1. Vyjměte kultury z inkubátoru a jemným zakroužením resuspendujte buňky.
2. Přenechte obsah kultivační lahve do 15ml centrifugační zkumavky.
3. Do každé zkumavky přidejte 100 µl zásobního roztoku Colcemid (10 µg/ml).
4. Zazátkujte zkumavky a promíchejte převrácením.
5. Zkumavky inkubujte 20 minut při teplotě 37 °C.
6. Po inkubaci zkumavky odstředěte po dobu 8 minut na 1 200 ot./min. (300x g).
7. Opatrně z každé zkumavky aspirujte supernatant.
8. Resuspendujte buňčný pelet jemným promícháním nebo cvrčkáním ukazovákem v něm zkumavky.
9. VELMI POMALU přidejte 10 ml hypotonického roztoku (chlordin draselný 0,075 M) do každé zkumavky při vortextování (na nejnižší rychlosť).
10. Nechte zkumavky 20 minut odstát při pokojové teplotě (hypotonizace).
11. Odstředěte zkumavky po dobu 8 minut na 1 200 ot./min. (300x g).
12. Aspirujte supernatant; ponechte přibližně 1,0 ml hypotonického roztoku na buňčný pelet.
- PONÁMKÁ: Věnujte pozornost vlnitěmu materiálu, který po centrifugaci může z peletu zasahovat do supernatantu. Posledních několik ml supernatantu může být nutné odstranit ručně Pasteurovou pipetu (nikoli podtlakovou aspiraci), aby zabránilo nasáti celého buňčného peletu do odpadní nádoby.
13. Resuspendujte buňčný pelet podle popisu v kroku 8.
14. VELMI POMALU přidejte 10 ml fixačního roztoku methanol : kyselina octová (3 : 1) do každé zkumavky při vortextování (na nejnižší rychlosť).
15. Nechte zkumavky 20 minut odstát při pokojové teplotě (první fixaci).
16. Opakujte kroky 11-13.
17. Přidejte 5 ml fixačního roztoku jako v kroku 14.
18. Nechte zkumavky 10 minut odstát při pokojové teplotě (druhá fixace).
19. Opakujte kroky 16-18 (třetí fixace).
20. V této chvíli lze fixované buňčné pelety ihned použít k přípravě sklíček podle standardního protokolu laboratoře nebo uložit do chladničky (2-8 °C) k budoucímu použití.

UCHOVÁVÁNÍ A STABILITA

CHANG Medium BMC je řeba do použití uchovávat při teplotě nižší než 10 °C. Pokud je skladováno zmrzlené, CHANG Medium BMC je stabilní do data expirace uvedeného na štítku lahve. Po rozmrzení lze všechny nespotebované výrobky rozdělit na díly používané při zpracování a znova umístit k pozdějšímu použití nebo pevně uzavřít a skladovat po dobu až 30 dní při teplotě 2 °C až 8 °C. Chraňte před fluorescenčním světlem.

BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ A VAROVÁNÍ

Tento prostředek je určen k použití pracovníky školenými v postupech, které zahrnují indikovanou aplikaci, pro kterou je prostředek určen.

CHANG Medium BMC obsahuje FBS a kondicionáne médium GCT a je třeba s ním zacházet při dodržení všeobecných laboratorních bezpečnostních opatření.

Médium obsahuje k omezení potenciální kontaminace antibiotikum (gentamicin), ale při dávkování média je vždy třeba používat aseptické techniky. Nepoužívejte žádné médium, které nemá červenou barvu.

INDIKATIONER FOR ANVENDELSE

CHANG Medium BMC er bereget til anvendelse ved primær dyrkning af kliniske humane knoglemarvskulter til karyotypbestemmelse og anden genetisk testing af forskellige hæmatologiske lidlser.

BESKRIVELSE AF PRODUKTET

CHANG Medium BMC er et brugsklart medium, der består af RPMI Medium 1640 med FBS, HEPES-buffer, L-glutamin, kæmpecelletumor (Giant Cell Tumor, GCT) konditioneret medium og gentamicinsulfat. CHANG Medium BMC er blevet optimeret til at støtte effektiv cellevedhæftning og vækst af knoglemarvsceller til cytogenetisk analyse. Det er ikke nødvendigt at tilsette andre komponenter inden dyrkning af knoglemarven.

KOMPONENTER

Aminosyre	Proteiner, hormoner og vækstfaktorer	Vitaminer og sporelementer
Arginin	Født bovint serum (FBS)	Nicotinamid
Asparagin		Riboflavin
Asparaginsyre		Pantothenysyre
Cystin		Cobalamin
Glutamin	pH-indikator Rød fenol	Thiamin
Glutaminsyre		
Glycin		
Histidin	Salte og ioner	Pyridoxin
Hydroxyprolin	Natriumklorid	
Isoleucin	Kolinolikrid	Paraaminobenzoesyre
Leucin	Kaliumklorid	
Lysin	Magnesiumsulfat	Andet
Methionin	Natriumfosfat	Kæmpecelletumor
Phenylalanin	Kaliumnitrat	konditioneret
Prolin	Buffere	medium (Giant cell tumor conditioned medium, GCT-CM)
Serin	Natriumbikarbonat	Glutathion
Threonin	HEPES	Biotin
Tryptofan		
Tyrosin		
Valin	Antibiotikum Gentamicinsulfat	Energisubstrater Glukose Inositol
Vand		
Af kvalitet til injektionsvæске		

NØDVENDIGE MATERIALER OG UDSYR, DER IKKE MEDFØLGER

1. Sterile centrifugerør og dyrkningskolber af plastic
2. CO₂-inkubator på 37 °C
3. Bordcentrifuge
4. Vortexmixer
5. Colcemid-stampløsning, 10 µg/ml
6. Kaliumpotassidopløsning, 0,075 M
7. Fiksieringsløsning, methanol:eddkysesyre (3:1)

KVALITETSSIKRING

Flere faktorer, herunder prøvernes kilde, kulturons tilstand og valg af reagenser, kan have indflydelse på de opnåede resultater. Brugere rådes til at køre hvert nyt reagensbatch parallelt med referencemateriale, der vides at have passende aktivitet, inden rutineanvendelse. Hvert parti CHANG Medium BMC er blevet ydeevnetestet på kliniske knoglemarvskulter på et uafhængigt klinisk cytogenetisk laboratorium og sammenlignet med et kontrolmedium. Resultaterne rapporteres på et partispecifikt analysecertifikat.

KLARGØRING

CHANG Medium BMC skal løes op natten over i koleskab (2-8 °C) og derefter blandes forsigtigt for at sikre homogenitet. Dispenser 10 ml af mediet aspektisk ind i sterile dyrkningskolber, og akvælibrer til 37 °C til øjeblikkelig anvendelse til knoglemarvskulter.

Bemerk: Der dannes ofte kaliumkarbonatkristaller i CHANG Medium BMC. Tilstedeværelsen af disse krystaller lader ikke til at forårsage nogen skadelig effekt på produkets ydeevne.

BRUGSANVISNING

Prøveforberedelse:

Anvend 0,5 til 1,0 ml natriumhepariniseret knoglemarvsaspirat. Lithiumheparin, EDTA eller citratantikoagulanter er ikke velegnede til cytogenetiske undersøgelser.

- Hvis der modtages mere end 5 ml knoglemarvsaspirat, kan prøven være en hämodilution. Centrifuger prøven ned for at isolere knoglemarvsfraktionen.
- Hvis prøven ankommer i transportmedium, centrifugeres prøven ned, og transportmediet (supernatant) fjernes. Resten af aspiratfraktionen indpodes.

For yderligere oplysninger om brug af disse produkter skal hvert laboratorium følge sine egne procedurer og protokoller, som er blevet specifikt udviklet og optimeret til laboratoriets eget medicinske program.

Knoglemarvskulter:

Marker alle dyrkningsbeholderne med patientnavn, prøvenummer og kulturtypen. For hver prøve klargøres en kolbe med:

1. 10,0 ml CHANG Medium BMC.
2. Akvælibrer kolben til 37 °C, inden prøven indpodes.
3. Indpod 0,5 ml (500 µl) af prøven, eller en passende mængde afhængigt af leukocytallet i hver kolbe, med 10,0 ml præ-akvælibreret CHANG Medium BMC. Tilsæt mindre af prøven, hvis leukocytallet er højt (> 30.000) eller mere, hvis leukocytallet er lavt (< 5.000).
4. Inkubér kolben ved 37 °C i 1-2 dage.

Høst af kulturerne:

1. Tag kulturerne ud af inkubatoren, og hvirvl dem forsigtigt rundt for at resuspendere cellerne.
2. Over kolbens indhold til et 15 ml centrifugerør.
3. Tilsæt 100 µl Colcemid-stampløsning (10 µg/ml) til hvert rør.
4. Sæt hæller på rørene, og bland dem ved at vend dem op og ned.
5. Inkubér rørene ved 37 °C i 20 minutter.
6. Efter inkubation centrifugeres rørene i 8 minutter ved 1200 o/min. (300 x g).
7. Aspirér forsigtigt supernatanten ud af hvert rør.
8. Resuspendr cellepelleten ved forsigtig blanding eller ved at banke let på bunden af røret med pegefingeren.
9. Tilsæt MEGET LANGSOMT 10 ml hypotonisk oplosning (0,075 M kaliumpotassid) til hvert rør, mens der vortexblandes (på laveste indstilling).
10. Lad rørene stå ved stuetemperatur i 20 minutter (hypotonisk behandling).
11. Centrifugér rørene i 8 minutter ved 1200 o/min. (300 x g).
12. Aspirér supernatanten, og efterlad ca. 1,0 ml hypotonisk oplosning over cellepelleten.

BEMÆRK: Udvis forsigtighed mht. fibrot materiale, der kan strække sig fra cellepelleten og op ind i supernatanten efter centrifugering. De sidste par ml supernatant skal muligvis fjernes med hånden med en Pasteurpipette (ikke med vakuumspiralon) for at undga at aspirere hele cellepelleten ind i afaldsbeholderne.

13. Resuspendr cellepelleten, som beskrevet i trin 8.
14. Tilsæt MEGET LANGSOMT 10 ml methanol: eddkysesyre (3:1) fiksieringsveske til hvert rør, mens der vortexblandes (på laveste indstilling).
15. Lad rørene stå ved stuetemperatur i 20 minutter (første fiksering).
16. Gengør trin 11-13.
17. Tilsæt 5 ml fiksering som i trin 14.
18. Lad rørene stå ved stuetemperatur i 10 minutter (anden fiksering).
19. Gengør trin 16-18 (tredje fiksering).
20. På dette tidspunkt kan de fikserede cellepellets straks anvendes til forberedelse af objekglas ifølge laboratoriets standardprotokol eller opbevares i koleskab (2-8 °C) til senere anvendelse.

OPBEVARING OG STABILITET

CHANG Medium BMC skal opbevares frossent under -10 °C indtil anvendelse. CHANG Medium BMC er stabilt indtil udlobsdatoen på flaskeliketten ved opbevaring i frossen tilstand. Efter opthoning kan evt. ubrugt produkt afmåles i brugelige mængder og genfryses til senere anvendelse eller lukkes tæt til og opbevares ved 2-8 °C i op til 30 dage. Beskyttes mod fluorescerende lys.

FORHOLDSREGLER OG ADVARSLER

Dette udstyr er bereget til brug af personale, der er uddannet i procedurer, der inkluderer den indicerede anvendelse, som dette udstyr er bereget til.

CHANG Medium BMC indeholder FBS- og GCT-konditioneret medium og skal håndteres med universelle forholdsregler for laboratorier. Mediet indeholder et pH-indikator (gentamicin) for at reducere risikoen for bakteriel kontaminerings, men der skal allid anvendes aseptiske teknikker ved dispensering af mediet. Et medium, der ikke er rødt, må ikke anvendes.

SUOMI**KÄYTÖÄIHE**

CHANG Medium BMC on tarkoitettu käytettäväksi ihmisen luuytimen kliinisten primaariviljelmien kariotypin määrittämistä ja erilaisten hematologisten sairauksien muuta geneettistä testausta varten.

VÄLINEEN KUVAUS

CHANG Medium BMC on käyttövalmis liuos, joka sisältää RPMI Medium 1640 -elatusainetta ja naudan sikiön seerumi, HEPES-puskuria, L-glutamidia, Giant Cell Tumor (GCT) Conditioned Medium -liuosta ja gentamysiinisulfatia. CHANG Medium BMC on optimoitu tukeamaan tehokasta luuydinsolujen kiinnitystä ja kasvua sytogeneettisissä analysoissa varten. Minkään ainesosan lisääntämistä ennen luuytimen viljelyä ei tarvita.

AINESOSAT

Aminohappo	Proteiin, hormoni ja kasvutekijät	Vitamiinit ja hivenaineet
arginini	naudan sikiön seerumi (FBS)	foolihappo
asparagini		nicotinamidi
asparaginsyre		riboflavin
cystiini		pantoteenihappo
glutamiini	pH-indikaattori	tiamini
glutaminiinhappo	fenolipuna	kovalamini
glysiini		pyridoksiini
histidiini		aminobentsoinihappo
hydroksiproliini		Muu
isoleusini	Nautili	osteoklastoma-soluvielmissä
leusini		käytetty liuosa (GCT-CM)
lysini		glutatioli
metioniini		biotili
fenyllalanini		
proliini		
seriini		
treonili		
tryptofani		
tyrosini		
vallini		
Vesi	Antibiootti gentamysiinisulfatia	Energiasubstraatti
injektionesteisiin		glukoosi
tarkoitetun veden laatuunien		inositolti

TARVITTAVAT MATERIAALIT JA LAITTEISTOT, JOITA EI TOIMITETA**MUKANA**

1. Muovinen sterileyjä sentrifugiputki ja viljelypulloja
2. CO₂-lämpökaappi, 37 °C
3. Pöyläsentrifugi
4. Vortex-sekoitin
5. Colsemid-kantiluo, 10 µg/ml
6. Kaliumkloridiluo, 0,075 M
7. Fiksiliuoso, metanol:eddkahappo (3:1)

LAADUNVARMENNUS

Saatuun tulokseen voivat vaikuttaa useat tekijät, kuten näytteiden lähdde, viljelysolusuhde ja reagenssin valinta. Käyttäjä neuvoa testaamaan jokainen uusi reagenssista riittävästi tunnetun, sopivan aktiivisuuden omaavan materiaalin kanssa ennen kuin era otetaan rutiininomaiseen käytöön. Riippumaton kliininen sytogenetikkalaboratorio on testannut jokaisen CHANG Medium -erän suorituskyvyn kliinissä luuydinviljelmissä kontrolliliuokseen verrattuna. Tulokset ilmoitetaan eräkohtaisessa analyysisertifikaatissa.

KÄYTÖN VALMISTELU

CHANG Medium BMC on sulateltava yön yli jääkaapissa (2-8 °C) ja sitten sekoitettava varovasti homogeniseeraen takaisemaksi. Jaa aselisesti 10 ml liuosta steriileihin viljelypulloihin ja anna tasapaidotusta 37 °C:seen välitontta luuydinviljelmissä käytämistä varten.

Huomautus: CHANG Medium BMC -liuokseen muodostuu usein kalsiumkarbonaatkitteitä. Naiden kiteiden esiintymisen ei ole osoitettu heikentävän tuotteen toimintakykyä millään tavoin.

KÄYTTÖOHJEET

Näytteen valmistelu:

Käytä 0,5-1,0 ml natriumheparinisoitua luuydinaspiraattia. Lithiumheparini, EDTA tai silraatiantikoagulantit eivät sovi sytogeneettisiin tutkimuksiin.

- Jos saadaan yli 5 ml luuydinaspiraattia, näytte saattaa olla läimentunut verellä. Sentrifugoi lyhyesti näyte pojhaan luuydinaspiraattoon.
- Jos näyte saapuu kuljetusliuoksessa, sentrifugoi lyhyesti näyte pojhaan ja poista kuljetusliuos (supernantti). Siirrosta käytäen jäljellä olevaa aspilaattiosaa.

Kunkin laboratoriota tulee katsoa lisähajeet näiden tuotteiden käytöltä varten omista laboratoriokäytäntö- ja protokollaohjeistaan, jotka on kehitetty ja optimoitu nimenomaan laboratoriota omia terveydenhuolto-ohjelmia varten.

Luuytimen viljely:

Merkitsä kaikkiin viljelyastioihin potilaan nimi, näyttenumeron ja viljelytyppi. Valmistele kutakin näytettä varten pullo, joka sisältää:

1. 10,0 ml CHANG Medium BMC -liuosta.
2. Tasapainotusta pulloa 37 °C:seen ennen näytteen siirrostamista.
3. Siirrosta 0,5 ml (500 µl) näytettiä tai asianmukainen määrä, riippuen valkosolumäärästä (WBC), jokaiseen pulloon, jossa on 10,0 ml ennalta tasapainotettua CHANG Medium BMC -liuosta. Lisää vähemmän näytettiä, jos WBC-määrä on suuri (> 30 000), tai enemmän näytettiä, jos WBC-määrä on pieni (< 5 000).
4. Inkuboi pulloa 37 °C:ssa 1-2 päivän ajan.

Viljelman kerääminen:

1. Ota viljelmät lämpökaapista ja uudelleensuspensioidi solut varovasti pyörityttämällä.
2. Siirrä pullon sisältö 15 ml:n sentrifugiputkeen.
3. Lisää 100 µl Colcemid-kantiluoista (10 µg/ml) jokaiseen putkeen.
4. Sulje putket korkilla ja sekoita känteklemällä.
5. Inkuboi putkia 37 °C:ssa 20 minuutin ajan.
6. Sentrifugoi putkia inkuboinnin jälkeen 8 minuuttia nopeudella 1 200 rpm (300 x g).
7. Aspiroi varovasti supernantti kustakin putesta.
8. Uudelleensuspensioidi solupelletti varovasti sekoittamalla tai napsauttamalla putken pohjaa etusormella.
9. Lisää HYVIN HITAASTI 10 ml hypotonista liuosta (0,075 M kaliumkloridia) kuhunkin putkeen, samalla kun sekoitatai Vortexilla (pienin asetus).
10. Anna putkien olla paikallaan huoneenlämmössä 20 minuuttia (hypotoninen käsittely).
11. Sentrifugoi putkia 8 minuuttia nopeudella 1 200 rpm (300 x g).
12. Aspiroi supernantti jättäänoi 1,0 ml hypotonista liuosta solupelletin yläpuolelle.
13. Uudelleensuspensioidi solupelletti valheessa 8 kuvattava tavalla.
14. Lisää HYVIN HITAASTI 10 ml metanolia: eddkahappofiksatiivilia (3:1) kuhunkin putkeen, samalla kun sekoitatai Vortexilla (pienin asetus).
15. Anna putkien olla paikallaan huoneenlämmössä 20 minuuttia (ensimmäinen fiksaus).
16. Tolsta vaiheet 11-13.
17. Lisää 5 ml fiksatiivilia kuten valheessa 14.
18. Anna putkien olla paikallaan huoneenlämmössä 10 minuuttia (toinen fiksaus).

19. Toista vaiheet 16-18 (kolmas fiksaus).

20. Fiksattuun solupelletejä voidaan tässä vaiheessa käytä heti näyteläsien valmistamiseen laboratoriota vakiomuodellitilässä (2-8 °C) myöhempää käytöltä varten. Liuoso säilytä tiukasti korkilla suljettuna ja 2-8 °C:n lämpötilassa enintään 30 päivää. Suaaja loistevalaisimien valotta.

SÄILYTÄMINEN JA STABILIUS

CHANG Medium BMC on säilytettävä pakastettuna alle -10 °C:lla, kunnes sitä tarvitaan käytöön. CHANG Medium BMC -liuos on stabilisaation eteksi merkityn viimeiseen käytönpäivään saakka, kun luosta säilytetään pakastettuna. Sulatukseen jälkeen käytämätön liuos voidaan jaka ja työskentelyin ja pakastaa uudelleen myöhempää käytöltä varten. Luos säilytätiä vähemmän korkilla suljettuna ja 2-8 °C:n lämpötilassa enintään 30 päivää. Suaaja loistevalaisimien valotta.

VAROTOIMET JA VAROITUKSET

Tämä väline on tarkoitettu sellaisen henkilöstön käytettäväksi, joka on koulutettu menetelmiin, joihin kuuluu vähelineen tarkoitettu, käytööihin mukainen käytö.

CHANG Medium BMC sisältää naudan sikiön seerumi ja GCT-solujen viljelyssä käytettytä elatusainetta, ja sitä on käsiteltävä laboratoriota yleisistä varotoimista noudattaen. Luos sisältää antibioottia (gentamysiini) bakteerikontaminaatio mahdollisuuden vähentämiseksi, mutta liuosta jätetään aina käytettävä aseptisia menetelmiä. Älä käytä mitään liuosta, joka ei ole variltaan punaista.

HUOMAUTUS: Varo sääkeistä materiaalia, joka voi

uloittaa solupelletistä ylös supernanttiin sentrifugoinnin jälkeen. Supernantti viimeiset muutamat millilitrit on ehkä poistettava käsiväli pasteripipetillä (ei imuaspiraatiolla), jotta koko solupelletin imeminen jääteistään vältetään.

LIETOŠANAS INDIKĀCIĀJA
„CHANG Medium BMC“ (Čangā barotne BMC) ir paredzēta lietošanai kliniskā cilvēka kaulu smadzeņu kultūru primārajā kultivēšanā, lai veiktu kariotipu noteikšanu un citus genētiskos testus dažādu hematoloģisku traucējumu gadījumā.

IERĪCES APRAKSTS

„CHANG Medium BMC“ ir lietošanai gatava barotne, kas sastāv no „RPMI Medium 1640“ ar lielkopu embriju serumu (FBS), HEPES bufera, L-glutamīna, gigantisko šūnu audžēja (GCT) šūnu iedarbībā kondicionētās barotnes un gentamicīna sulfāta. „CHANG Medium BMC“ ir optimizēta, lai veicinātu efektīvu kaulu smadzeņu šūnu pievienošanos un augšņau citogenētisku analīžu veikšanai. Pirms kaulu smadzeņu šūnu kultivēšanas nav nepieciešama citu sastāvdāļu pievienošana.

SASTĀVDĀĻAS

Aminoskābe	Proteīni, hormoni un augšņau faktori	Vitamīni un mikroelementi
Argīnīns		
Asparagīns		
Asparagīnskābe		
Cistīns	Liellopus embriju serums (<i>fetal bovine serum - FBS</i>)	Nikotinamīds Riboflavīns
Glutamīns		Tiamīns
Glutamīnskābe	pH indikators	Pantotēnskābe
Glicīns	Fenolsarkanais	Kobalamīns
Histidīns		Piridoksińs
Hidroksiprofīns	Sāls un joni	Aminobenzoskābe
Izoleicīns	Nātrija hlorīds	
Leicīns	Holīna hlorīds	Citas
Lizīns	Kalīja hlorīds	Gigantisko šūnu audžēja (GCT) šūnu iedarbībā kondicionētās „CHANG Medium BMC“.
Metionīns	Magnīja sulfāts	Pievienojojiet mazāk paraugu, ja ir liels balto asinskerīmenišu skaits (> 30 000), vai vairāk paraugu, ja balto asinskerīmenišu skaits ir mazs (< 5000).
Fenīlanīns	Nātrija fosfāts	3. Inkubācijā flakonā 37 °C temperatūrā 1-2 dienas.
Prolīns	Kalcija nitrāts	
Serīns	Buferi	
Treonīns	Nātrija bikarbonāts	
Triptofāns	HEPES	
Tirozīns		
Vainīs		Enerģētiski substrāti
Ūdens	Antibiotikas	Glikoze
Injekciju ūdens (WF) kvalitāte	Gentamicīna sulfāts	Inozīts

NEPIECIEŠAMIE, BET NEIETVERTIE MATERIĀLI

1. Sterīli centrifūgas plastmasas stobriņi un kultūras flakoni
2. CO₂ inkubators, kura iekšējā temperatūra ir 37 °C
3. Laboratorijas galda centrifūga
4. Virpūlmaisītājs
5. Standartķīdums „Colcemid“ 10 µg/ml
6. Kālija hlorīda šķīdums 0,075 M
7. Fiksācijas šķīdums, metilspīrs:etikskābe (3:1)

KVALITĀTES NODROŠINĀŠANA

Iegūto rezultātu var ieteikmēt vairāki faktori, tostarp paraugu ieguvies avots, kultivēšanas apstākļi un reagentu izvēle. Pirms apstiprināšanas izmantošanai iekšķīdums praksē lietotājiem ir ieteicams izmēģināt ikvienu jaunu reaģenta partiju, paralēli lietot jāsādzīnāmo materiālu, kura iedarbība ir ziņāma un piemērots. Katrās „CHANG Medium BMC“ partijas veikspēja ir testēta kliniskās kaulu smadzeņu kultūras neatkarīgā kliniskās citogenētikas laboratorijā, salīdzinot to ar kontrolbarotni. Rezultāti tiek ziņoti katrai partijai Tāpā analīzes sertifikātā.

SAGATAVOŠĀNĀ LIETOŠANAI

„CHANG Medium BMC“ pa nakti jāstāj ledusskapī (2-8 °C) atkausešanai, pēc tam uzmanīgi jāsamaisa, lai nodrošinātu viendabīgumu. Aseptiski dozējiet 10 ml barotnes sterilos kultūras flakonus un nostabilizējiet 37 °C temperatūrā tūlītējai izmantošanai kaulu smadzeņu kultūrās.

Piezīme: barotnē „CHANG Medium BMC“ parasti veidojas kalcija karbonāta kristāli. Nav novērots, ka šie kristāli radītu jebkādu nevēlamu ieteikmi uz produkta veikspēju.

LIETOŠANAS NORĀDĪJUMI

Parauga sagatavošana: izmantojiet 0,5 līdz 1,0 ml ar nātriju heparinīzētu kaulu smadzeņu aspirātu. Litija heparīns, EDTA vai citrātus saturīši antikoagulantī nav piemēroti citogenētiskiem pētījumiem.

- Ja saņemts vairāk nekā 5 ml smadzeņu aspirātu, parauga var būt ar sašķiedrinātām asinīm. Centrifugējiet paraugu, lai izložtu kaulu smadzeņu frakciju.
- Ja paraugu tīcis piegādāts transportēšanas barotnē, centrifugējiet to un atdaliet transportēšanas barotni (supernantantu). Inokulējiet, izmantojot atlikušo aspirātu frakciju.

Papildu informāciju par šo produktu lietošanu meklējama katrais laboratorijas procedūru aprakstos un protokolos, kas tāpā izstrādāti un optimizēti individuālajai medicīniskajai programmai.

Kaulu smadzeņu kultūra

Markējiet visus kultūras traukus ar pacienta vārdu, uzvārdu, parauga numuru un kultūras veidu. Katram paraugam sagatavojiet flakonu, kas satur tālāk norādīto.

1. 10,0 ml „CHANG Medium BMC“.
2. Pirms paraugu inokulācijas stabilizējiet flakonu 37 °C temperatūrā.
3. Inokulējiet 0,5 ml (500 µl) paraugu vai atbilstošu tā daudzumtu atkarībā no balto asinskerīmenišu skaita katrā flakonā, kas satur 10,0 ml iepriekš stabilizētās „CHANG Medium BMC“.
4. Pievienojojiet mazāk paraugu, ja ir liels balto asinskerīmenišu skaits (> 30 000), vai vairāk paraugu, ja balto asinskerīmenišu skaits ir mazs (< 5000).

Kultivētā materiāla ievākšana

1. Izņemiet kultūras no inkubatora un uzmanīgi pavirpiniet to, lai atkārtoti suspendētu šūnas.
2. Pārnesiet flakona saturu uz 15 ml centrifūgas stobriņu.
3. Katrā stobriņa saturā pievienojiet 100 µl standartķīduma „Colcemid“ (10 µg/ml).
4. Uzlieciet stobriņu aizbāžus un samaisiet, apvēršot otrādi.
5. Inkubācijā stobriņus 37 °C temperatūrā 20 minūtes.
6. Pēc inkubācijas centrifugējiet stobriņus 8 minūtes ar ātrumu 1200 apgr./min (paatrīnājums 300 x g).
7. Rūpīgi aspirējiet katrā stobriņa supernantantu.
8. Atkārtoti suspendējiet šūnu lodīti, uzmanīgi maisot vai viegli priesot stobriņa apakšdaļai jaunā hlorīda šķīdumā (lēnākajā iestātījumā).
9. Kamēr stobriņi atrodas virpūlmaisītājā (lēnākajā iestātījumā), LÖTI LENI pievienojet katram stobriņam 10 ml hipotoniskā šķīduma (0,075 M nātrija hlorīda).
10. Atstājiet stobriņus istabas temperatūrā 20 minūtes (hipotoniskā apstrāde).

11. Centrifugējiet stobriņus 8 minūtes ar ātrumu 1200 apgr./min (paatrīnājums 300 x g).
12. Aspirējiet supernantantu, atstājot aptuveni 1,0 ml hipotoniskā šķīduma virs šūnu lodītes.

- PIEZĪME: uzmanīties, rikojoties ar šķiedrainu materiālu, kas pēc centrifugēšanas no šūnu lodītes var iestiepties supernantā. Pēdējos supernantā mi var būt nepieciešams atlīdzīgi manuāli ar Pastēra pipeti (nelietot vakuuma aspirāciju), lai nepielautu visas šūnu lodītes aspirēšanu atriktu mu konteinerā.
13. Atkārtoti suspendējiet šūnu lodīti, kā aprakstīts 8. darbībā.
 14. Kamēr stobriņi atrodas virpūlmaisītājā (lēnākajā iestātījumā), LÖTI LENI pievienojet katram stobriņam 10 ml 3:1 metilspīrs:etikskābes fiksācijas šķīduma.
 15. Atstājiet stobriņus istabas temperatūrā 20 minūtes (pirmā fiksācija).

ROMÂNĂ**INDICAȚIE DE UTILIZARE**

CHANG Medium BMC este destinat utilizării la cultivarea primară a culturilor clinice de măduvă osoasă de origine umană pentru cariotipare și alte teste genetice pentru difere tulburări hematologice.

DESCRIEREA DISPOZITIVULUI

CHANG Medium BMC este un mediu gata pentru utilizare care constă în RPMI Medium 1640, cu FBS, tampon HEPES, L-glutamină, mediu condiționat pentru tumorii cu celule gigant (GCT) și sulfat de gentamicină. CHANG Medium BMC a fost optimizat pentru a susține atașarea și creșterea eficientă a celulelor de măduvă osoasă pentru analiza citogenetică. Nu este necesară adăugarea niciunor alte componente înainte de cultivarea măduvei osoase.

COMPONENTE

Aminoacid	Proteine, hormoni și factori de creștere	Vitamine și oligoelemente
Arginină	Ser fetal bovin (SFB)	Acid folic
Asparagine		Nicotinamidă
Acid aspartic		Riboflavina
Cistină		Tiamină
Glutamină	Indicator pH	Acid pantotenic
Acid glutamic	Rosu de fenol	Cobalamina
Glicina		Piridoxină
Histidină		Acid aminobenzoic
Hidroxiprolină	Săruri și ioni	Aluminiu
Isoleucină	Clorură de sodiu	Mediu condiționat
Leucină	Clorură de colină	pentru tumori cu celule gigant (GCT-CM)
Lizină	Clorură de potasiu	Glutatiană
Metionină	Sulfat de magnesiu	Bicarbonat de sodiu
Fenilalanină	Fosfat de sodiu	Azotat de calciu
Prolină		
Serină		
Treonină	Solutii tampon	
Triptofan	Bicarbonat de sodiu	
Tirozină	HEPES	
Valină		
	Antibiotic	Substraturi energetice
	Sulfat de gentamicină	Glucoză
Apă		Inozitol

MATERIALE ȘI APARATURĂ NEFURNIZATE, DAR NEFURNIZATE

1. Eprubete de centrifugă din plastic steril și vase de cultură
2. Incubator cu CO₂ la 37°C
3. Centrifugă de masă
4. Agitator vortex
5. Solutie stoc de Colcemid, 10 µg/ml
6. Solutie de clorură de potasiu, 0,075 M
7. Solutie de fixativ, metanol:acid acetic (3:1)

ASIGURAREA CALITĂȚII

Mai mulți factori, printre care se numără sursa de specime, condițiile de cultivare și selecția reactivilor, pot influența rezultatul obținut. Înainte de adoptarea pentru utilizarea de rutină, utilizatorii sunt sfătuiri să ruleze fiecare lot de reactiv în paralel cu materialul de referință despre care se cunoaște că acționează adevarat. Fiecare lot de CHANG Medium BMC a fost testat în privința performanței pe culturi clinice de măduvă osoasă în comparație cu un mediu de control într-un laborator de citogenetică medicală independent. Rezultatele sunt raportate într-un certificat de analiză specific pentru fiecare lot.

PREGĂTIREA PENTRU UTILIZARE

CHANG Medium BMC trebuie dezghețat peste noapte la frigider (2-8 °C), apoi agitat usor pentru asigurarea omogenității. Transferați aseptic 10 ml de mediu în vase de cultură steril și echilibrați la 37°C pentru utilizare imediat în laborator de citogenetică medicală independent. Rezultatele sunt raportate într-un certificat de analiză specific pentru fiecare lot.

Notă: În CHANG Medium BMC se formează în mod obișnuit cristale de carbonat de calciu. Nu s-a demonstrat că prezența acestor cristale provoacă un efect nedorit asupra performanței produsului.

INSTRUCȚIUNI DE UTILIZARE

Pregătirea probei:

Folosiți între 0,5 și 1,0 ml de aspirat de măduvă osoasă pe heparină sodică. Anticoagulanții pe bază de litiu heparină, EDTA sau citrat nu sunt corespunzători pentru studiile citogenetice.

- Dacă s-a recoltat mai mult de 5 ml de aspirat de măduvă osoasă, proba poate fi hemodiluată. Centrifugati proba pentru a izola fracția de măduvă osoasă.
- Dacă proba săsosește într-un mediu de transport, centrifugati proba și îndepărtați mediu de transport (supernantantul). Inoculați folosind restul fracției de aspirat.

Pentru detalii suplimentare privind folosirea acestor produse, fiecare laborator trebuie să își consulte propriile proceduri și protocoale de laborator, care au fost elaborate și optimizează special pentru programul dvs. medical individual.

Cultivarea măduvei osoase:

Etichetați toate vasele de cultură cu numele pacientului, numărul probei și tipul de cultură. Pentru fiecare probă, pregătiți un vas care conține:

1. 10,0 ml CHANG Medium BMC.
2. Echilibrați flaconul la 37°C înainte de inocularea specimenului.
3. Inoculați 0,5 ml (500 µl) de probă sau cantitatea corespunzătoare în funcție de numărul de leucocite (WBC) în fiecare vas care conține 10,0 ml de CHANG Medium BMC pre-echilibrat. Adăugați mai puțină probă dacă numărul de leucocite este ridicat (> 30.000) sau mai multă probă dacă numărul de leucocite este scăzut (< 5.000).
4. Incubați vasul la 37°C timp de 1-2 zile.

Recoltarea culturilor:

1. Scoateți culturile din incubator și agitați ușor pentru a resupinda celulele.
2. Transferați conținutul vasului într-o eprubetă de centrifugă de 15 ml.
3. Adăugați în fiecare eprubetă 100 µl de soluție stoc de Colcemid (10 µg/ml).
4. Astupăti eprubetele și amestecați prin răsturnare.
5. Incubați eprubetele la 37°C timp de 20 de minute.
6. După incubare, centrifugăți eprubetele timp de 8 minute la 1200 rpm (300 x g).
7. Aspirați cu atenție supernantul din fiecare eprubetă.
8. Resupendați pleata de celule prin amestecare ușoră sau prin lovirea ușoră a fundului eprubetei cu degetul arătarăt.
9. Adăugați FOARTE LENT 10 ml de soluție hipotonică (0,075 M clorură de potasiu) în fiecare eprubetă în timp ce agitați în agitatorul vortex (la cea mai redusă valoare).
10. Lăsăți eprubetele să stea la temperatura camerei timp de 20 de minute (tratament hipotonic).
11. Centrifugăți eprubetele timp de 8 minute la 1200 rpm (300 x g).
12. Aspirați supernantul lăsând aproximativ 1,0 ml de soluție hipotonică deasupra plelei de celule.
- NOTĂ: Manifestați atenție la materialul fibros care este posibil să se extindă din pleata de celule în supernant după centrifugare. Poate fi necesar să se îndepărteze ultimii căpăți de supernant cu o pipetă Pasteur (fără a folosi aspirarea cu vacuum) pentru a evita aspirarea întregii plelei de celule în recipientul pentru reziduri.
13. Resupendați pleata de celule așa cum se descrie la pasul 8.
14. Adăugați FOARTE LENT 10 ml de soluție de fixativ (metanol:acid acetic 3:1 în fiecare eprubetă în timp ce agitați în agitatorul vortex (la cea mai redusă valoare).

DEPOZITARE ȘI STABILITATE

CHANG Medium BMC trebuie să fie depozitat congelat sub -10 °C până când este gata de utilizare. CHANG Medium BMC este stabilit până la data de expirare indicată pe eticheta de pe flacon când este gata de depozitat congelat. După dezghetare, orice produs neutilizat poate fi transferat în părți alicote de lucru și recogelat pentru utilizare ulterior sau închis ermetic și depozitat la o temperatură între 2°C și 8°C timp de pâna la 30 de zile. Protejați lumina fluorescentă.

PRECAUȚII ȘI AVERTISMENTE

Acest dispozitiv este conceput pentru a fi utilizat de către personal instruit în proceduri care includ întrebunțarea pentru care a fost conceput dispozitivul.

CHANG Medium BMC conține mediu condiționat FBS și GCT și trebuie manipulat aplicând măsurile de precauție general valabile pentru practica de laborator. Mediu conține un antibiotic (gentamicină) pentru a se reduce potențialul de contaminare bacteriană, dar ar trebui folosite întotdeauna tehnici aseptice la transferarea mediului. Nu folosiți niciun mediu care nu are culoarea roșie.

INDIKATIONER

CHANG Medium BMC är avsett för användning vid primärödning av kliniska humana benmärgskulturer för karyotypbestämmning och andra genetiska tester av olika hematologiska störningar.

PRODUKTBESKRIVNING

CHANG Medium BMC är ett medium som är färdigt att användas och består av RPMI Medium 1640 med FBS, HEPES-buffer, L-glutamin, GCT-konditionerat medium (Giant Cell Tumor) samt gentamicinsulfat. CHANG Medium BMC har optimerats för att främja effektiv vidhäftning och växt av benmärgsceller för cytogenetisk analys. Inga andra komponenter behöver tillslättas före ödling av benmärg.

KOMPONENTER

Aminosyror	Proteiner	Vitaminer och spåramnen
Arginin	hormoner samt tillväxtfaktorer	Folsyra
Asparagin	Fetalt bovärt	Nikotinamid
Asparaginsyra	serum (FBS)	Riboflavin
Cystein		Tiamin
Glutamin		
Glutaminsyra	pH-indikator	Pantotensyra
Glycin	Fenolrott	Kobalamin
Histidin		Pyridoxin
Hydroxiprolin	Salter och joner	Aminobensoesyra
Isoleucin	Natriumklorid	
Leucin	Kolinklorid	Övriga
Lysin	Kaliumklorid	GCT-konditionerat medium (Giant Cell Tumor)
Metionin	Magnesiumsulfat	
Fenyalanin	Natriumsulfat	Glutation
Prolin	Kalciumnitrat	Biotin
Serin		
Treonin	Buffertar	
Tryptofan	Natriumbikarbonat	Energisubstrat
Tyrosin	HEPES	
Valin		Glukos
Vatten	Antibiotikum	Inositol
Vatten för injektion (WFI)	Gentamicinsulfat	

MATERIAL OCH UTRUSTNING SOM KRÄVS MEN INTE MEDFÖLJER

1. Sterila centrifugörar av plast och ödlingsflaskor
2. CO₂-inkubator, 37 °C
3. Bänkcentrifug
4. Vortexbländare
5. Colcemid stamlösning, 10 µg/ml
6. Kaliumpotasslösning, 0,075 M
7. Fixeringslösning, metanol:ättiksyra (3:1)

KVALITETSSÄKRING

Ett flertal faktorer inklusive provernas ursprung, ödlingsförhållanden och val av reagenser kan påverka de resultat som erhålls. Vi rekommenderar användare att före rutinmässig användning kör varje ny reagensbatch parallellt med referensmaterial av känd, lämplig aktivitet. Prestandan hos varje lot av CHANG Medium BMC har testats på kliniska benmärgskulturer vid ett oberoende kliniskt cytogenetiskt laboratorium, och jämförts med ett kontrollmedium. Resultaten finns rapporterade på ett lotspecifikt analyscertifikat (Certificate of Analysis).

BEREDNING FÖR ANVÄNDNING

CHANG Medium BMC bör tinas över natten i kylskåp (2–8 °C) och därefter blandas försiktigt för att säkerställa att det är homogen. Dispenserar aseptiskt 10 ml medium i sterila ödlingsflaskor och ekvilibrera till 37 °C för omedelbar användning innan märgsodling.

Anm: Kalciumkarbonatkristaller bildas ofta i CHANG Medium BMC. Närvaron av dessa kristaller har inte visats inverka negativt på produktens funktion.

BRUKSANVISNING

Provberedning:

Använd 0,5–1,0 ml benmärgsaspirat hepariniserat med natriumheparin. Litiumheparin, EDTA eller citrathaltiga antikoagulantia är olämpliga för cytogenetiska undersökningar.

- Om mer än 5 ml benmärgsaspirat erhålls kan provet vara uppländat med blod. Centrifugera ned provet för att isolera benmärgsfractionen.
- Om provet anlander i transportmedium, centrifugera ned provet och avlägsna transportmediet (supernatanten). Använd den kvarvarande aspiratfraktionen för utsädd.

För ytterligare information om användning av dessa produkter bör varje laboratorium konsultera sina egna laboratorieföraranden och -protokoll som utevecklats och optimeras särskilt för det egna medicinska programmet.

Benmärgsodling:

Märk alla ödlingskärl med patientens namn, provnummer och typ av kultur. För varje prov, bered en flaska innehållande:

1. 10,0 ml CHANG Medium BMC.
2. Ekvilibrera flaskan till 37 °C före utsädd av provet.
3. Använd 0,5 ml (500 µl) prov eller lämplig volym beroende på leukocyttalet, till utsädd av celler i varje flaska innehållande 10,0 ml förekliberat CHANG Medium BMC. Använd en mindre provvolym vid högt leukocytat (> 30 000) och större provvolym vid lågt leukocytat (< 5 000).
4. Inkubera flaskan vid 37 °C i 1–2 dagar.

Skörd kulturerna:

1. Ta ut kulturerna ur inkubatorn och snurra dem försiktigt så att cellerna resuspenderas.
2. Överför flaskans innehåll till ett 15 ml centrifugör.
3. Tillsätt 100 µl Colcemid-stamlösning (10 µg/ml) till varje rör.
4. Försäkrar rören och blanda genom vändning.
5. Inkubera rören vid 37 °C i 20 minuter.
6. Centrifugera rören efter inkuberingen i 8 minuter vid 1 200 rpm (300 g).
7. Aspirera supernatanten försiktigt från varje rör.
8. Resuspendera cellpelleten genom att knappa på rörets bottens med pekingfret.
9. Tillsätt MYCKET LÄNGSAMT 10 ml hypoton lösning (0,075 M kaliumpotass) till varje rör under vortexblandning (på lägsta inställningen).
10. Låt rören stå i rumstemperatur i 20 minuter (hypoton behandling).
11. Centrifugera rören i 8 minuter vid 1 200 rpm (300 g).
12. Aspirera supernatanten men lämna kvar cirka 1,0 ml hypoton lösning ovanför cellpelleten.

ANM: Undvik fibröst material som eventuellt kan sticka upp i cellpelleten i supernatanten efter centrifugering. De sista få milliliterna supernatant kan behöva avlägsnas för hand med hjälp av en Pasteurpipett (vakuumaspirera ej) så att man undviker att aspirera upp hela cellpelleten i avfallsbehållaren.

13. Resuspendera cellpelleten enligt beskrivningen i steg 8.
14. Tillsätt MYCKET LÄNGSAMT 10 ml fixeringslösning med 3:1 metanol:ättiksyra till varje rör under vortexblandning (på lägsta inställningen).
15. Låt rören stå i rumstemperatur i 20 minuter (första fixeringen).
16. Upprepa steg 11–13.
17. Tillsätt 5 ml fixeringslösning som i steg 14.
18. Låt rören stå i rumstemperatur i 10 minuter (andra fixeringen).
19. Upprepa steg 16–18 (tredje fixeringen).
20. De fixerade cellpellets kan nu antingen användas omedelbart för beredning av objektkläs enligt laboratoriets standardforarande eller förvaras i kylskåp (2–8 °C) för senare användning.

FÖRVARING OCH HÄLLBARHET

CHANG Medium BMC ska förvaras fryst vid temperatur under –10 °C tills det skall användas. Vid frysförvaring är CHANG Medium BMC hållbart fram till det utgångsdatum som anges på flaskans etikett. Efter upplining kan eventuellt övand produkt delas upp i alkvetor och frysas på nytta för senare användning, eller förslutas tätt och förvaras vid 2–8 °C i upp till 30 dagar. Skyddas mot fluorescerande ljus.

FÖRSIKTIGHETSÄTGÄRDER OCH VARNINGAR

Denna produkt är avsedd att användas av personal med utbildning i procedurer som omfattar den indicerade tillämpning för vilken produkten är avsedd.

CHANG Medium BMC innehåller FBS samt GCT-konditionerat medium och ska hanteras enligt generella försiktighetsåtgärder för laboratorier. Mediet innehåller ett antibiotikum (gentamicin) för att minska risken för bakteriell kontaminering, aseptiska metoder ska dock alltid användas när medlet dispenseseras. Använd inte något medium som inte har röd färg.

POLSKI**PRZEZNACZENIE**

Pozywka CHANG Medium BMC jest przeznaczona do użytku do hodowli pierwotnej próbek klinicznych ludzkiego szpiku kostnego dla kariotypowania i innych testów genetycznych na różne schorzenia hematologiczne.

OPIS WYROBU

Produkt CHANG Medium BMC po pozywie gotowa do użycia, w której skład wchodzi pozywka RPMI Medium 1640 z FBS, bufor HEPES, L-glutamina, pozywka Giant Cell Tumor (GCT) Conditioned Medium i siarczan gentamycyny. Pozywkę CHANG Medium BMC zoptymalizowano pod kątem wydajnego przyłączania komórek i wzrostu komórek szpiku kostnego do analizy cytogenetycznej. Przed założeniem hodowli szpiku kostnego nie jest konieczne dodawanie żadnych dodatkowych składników.

SKŁADNIKI

Aminokwasy	Białka, hormony i czynniki wzrostu	Witaminy i pierwiastki śladowe
Arginina	Plodowa surowica bydła (FBS)	Kwas foliowy Nikotynamid Ryboflawina Tiamina Kwas pantotenowy Kobalamina Pirydoksyna Kwas aminobenzoewesowy
Asparagina		
Cystyna		
Glutamina	Wskaźnik pH Czerwień fenolowa	Inne Pozywka Giant cell tumor conditioned medium (GCT-CM)
Glycin		
Histydyna	Sole i jony Chlorek sodu Chlorek choliny Chlorek potasu Słarczany magnezu Fosforan sodu Azolan wapnia	
Hydroksyproolina	Izoleucyna	Inne Pozywka Giant cell tumor conditioned medium (GCT-CM)
Izoleucyna		
Leucyna		
Lizyna		
Metionina		
Fenyloalanina		
Prolina		
Seryna		
Treonina		
Tryptofan		
Tyrosyna		
Walina		
		Substraty energetyczne
		Antybiotyk Słarczan Glukoza Inozytol
		Woda o jakości WFI gentamicyny

MATERIAŁY I WYPOSAŻENIE WYMAGANE, ALE NIEDOSTARCZONE

1. Sterylne, wykonane z tworzywa sztucznego próbówki wirówkowe i butelek hodowlane
2. Inkubator z atmosferą CO₂ nastawiony na temperaturę 37°C
3. Wirówka laboratoryjna
4. Wytrząsarka
5. Roztwór podstawowy kolcemidu, 10 µg/ml
6. Roztwór chloreku potasu, 0,075 M
7. Roztwór utrwalający, metanol:kwas octowy (3:1)

ZAPewnianie JAKOŚCI

Na uzyskany wynik może wpływać wiele czynników, w tym pochodzenie próbek, warunki hodowli i wybór odczynników. Zalecane jest, aby przed przyjęciem do rutynowego stosowania nowej serii odczynnika użytkownicy przetestowali ją również z materiałem referencyjnym o znanej, odpowiedniej aktywności. Każda seria pozywki CHANG Medium BMC przetestowano pod kątem skuteczności w porównaniu do pozywki kontrolnej na hodowach klinicznych szpiku kostnego w niezależnych laboratoriach cytogenetycznych. Wyniki przedstawiono na stoistwo dla danej serii. Świadczenie analizy.

PRZYGOTOWANIE DO UŻYCIA

Pozywkę CHANG Medium BMC należy rozmrzać przez noc w chłodziarce (2–8 °C), a następnie delikatnie wymieszać, aby zapewnić jednorodność roztworu. W sposób aseptyczny rozdzielić po 10 ml pozywki do sterylnych butelek hodowlanych i zrównoważyć do temperatury 37°C w celu niezwłoczonego użycia do hodowli szpiku kostnego.

Uwaga: W pozywie CHANG Medium BMC często tworzą się kryształy weglanu wapnia. Nie wykazano, aby obecność tych kryształów wpływala negatywnie na właściwości produktu.

INSTRUKCJA UŻYCIA

Przygotowanie próbki:

Użyć od 0,5 do 1,0 ml aspiratu szpiku kostnego z heparyną sodową. Antykoagulant, takie jak heparyna litowa, EDTA lub cytrynian nie są odpowiednie do badań cytogenetycznych.

- Jeśli uzyskano więcej niż 5 ml aspiratu szpiku kostnego, próbka może być rozcierana krwią. Odwrócić próbkę, aby oddzielić frakcję szpiku kostnego.
- Jeśli próbka dostarczono w pozywie transportowej, odwrócić ją i usunąć pozywkę transportową (nadszczep). Posiąć komórki, używając pozostałej frakcji aspiratu.

Szczegółowe informacje o wykorzystaniu tych produktów należy zweryfikować wewnętrznych procedurach oraz protokołów laboratorium, które opracowano i zoptymalizowano pod kątem poszczególnych programów medycznych.

Hodowla komórek szpiku kostnego:

Opisano wszystkie naczynia hodowlane imieniem i nazwiskiem pacjenta, numerem próbki i typem hodowli. Dla każdej próbki przygotować butelkę zawierającą:

1. 10,0 ml pozywki CHANG Medium BMC.
2. Przed posiewem próbki zrównoważyć butelkę do temperatury 37°C.
3. Posiąć 0,5 ml (500 µl) próbki lub odpowiednią objętość próbki w zależności od liczby białych krwinek (WBC) do każdej butelki zawierającej 10,0 ml wstępnie zrównoważonej pozywki CHANG Medium BMC. Jeśli liczba WBC jest wysoka (>30 000), dodać mniejszą objętość próbki, a jeśli liczba WBC jest niska (<5000), dodać większą objętość próbki.
4. Inkubować butelkę w temperaturze 37°C przez 1–2 dni.

Zbiór hodowli:

1. Wyciągnąć hodowlę z inkubatora i delikatnie obracać butelkę ruchem wirowym, aby zawiąsić komórki.
2. Przenieść zawartość butelki do próbówki wirówkowej o pojemności 15 ml.
3. Dodać po 100 µl roztworu podstawowego kolcemidu (10 µg/ml) do każdej próbówki.
4. Zamknąć próbówkę i wymieszać, odwracając.
5. Inkubować próbówkę w temperaturze 37°C przez 20 minut.
6. Po inkubacji wirować próbówkę przez 8 minut przy 1200 rpm (300 x g).
7. Ostrożnie zaspirować nadszczep z każdej próbówki.
8. Zawiąsić osad komórkowy, delikatnie mieszając lub ostykając dno próbówki palcem wskazującym.
9. BARDZO POWOLI dodać 10 ml roztworu hipotonicznego (chlorek potasu w stężeniu 0,075 M) do każdej próbówki, wytrząsając ją (przy najniższym ustawieniu wytrząsarki).
10. Pozostawić próbówkę na 20 minut w temperaturze pokojowej (podawanie działaniu roztworu hipotonicznego).
11. Wirować próbówkę przez 8 minut przy 1200 rpm (300 x g).
12. Zaspirować nadszczep, pozostawiając około 1,0 ml roztworu hipotonicznego nad osadem komórkowym. UWAGA: Należy uważać na materiał włóknisty, który po odwracaniu może wystawać z osadem komórkowym do nadszczepu. Aby uniknąć zaspirowania całego osadu komórkowego do zbiornika na odpady, może być konieczne ręczne usunięcie ostatnich kilku ml nadszczepu za pomocą pipety Pasteura (nie korzystając z aspiracji próżniowej).
13. Zawiąsić osad komórkowy zgodnie z opisem w kroku 8.
14. BARDZO POWOLI dodać 10 ml roztworu utrwalającego, metanol:kwas octowy w stosunku 3:1, do każdej próbówki, wytrząsając ją (przy najniższym ustawieniu wytrząsarki).
15. Pozostawić próbówkę na 20 minut w temperaturze pokojowej (pierwsze utrwalenie).

16. Powtórzyć kroki 11–13.**17. Dodać 5 ml roztworu utrwalającego zgodnie z opisem w kroku 14.****18. Pozostawić próbówkę na 10 minut w temperaturze pokojowej (drugi utrwalenie).****19. Powtórzyć kroki 16–18 (trzecie utrwalenie).****20. Na tym etapie można od razu użyć utrwalonych osadów komórkowych do przygotowania preparałów zgodnie z standardowym protokołem laboratorium lub przechowywać osady w chłodziance (2–8°C) do późniejszego użytku.****PRZECHOWYwanie I STABILNOŚĆ**

Pozywka CHANG Medium BMC należy przechowywać zamrożoną w temperaturze poniżej –10 °C do czasu użycia. Pozywka zachowuje stałość do upływu terminu ważności podanego na etykiecie butelki, jeśli jest przechowywana w stanie zamrożonym. Po rozmrznięciu niezuzwity produktu można rozdzielić na porcje robocze i zamrozić ponownie do późniejszego użytku lub szczelnie zamknąć i przechowywać w temperaturze od 2°C do 8°C do 30 dni. Chronić przed światłem fluorescencyjnym.

ŚRODKI OSTROŻNOŚCI I OSTRZEŻENIA

Ten wyrób jest przeznaczony do użytku przez personel wykwalifikowany w dziedzinie procedur obejmujących wskazane zastosowanie, do którego wyrób ten jest przeznaczony.

Pozywka CHANG Medium BMC zawiera FBS i pozywkę GCT-CM i należy z nią postępować, przestrzegając standardowych środków ostrożności obowiązujących w laboratorium. Aby zmniejszyć ryzyko zanieczyszczenia bakteryjnego, pozywka zawiera antybiotyk (gentamycynę). Podczas rozdzierania pozywki należy jednak zawsze stosować techniki aseptyczne. Nie używać pozywki, która nie ma czerwonego koloru.

NÄIDUSTUS KASUTAMISEKS

CHANG Medium BMC on mõeldud kasutamiseks primaarsest kliinilistes inimese luuüdi kultuurides kariütöüpimed ja muude genetiliste, erinevate hematoloogiliste häirede testimise eesmärgil.

SEADME KIRJELDUS

CHANG Medium BMC on kasutusvalmis sööde, mis koosneb RPMI Medium 1640 FBS-i ja sisaldb HEPES-puhvit, L-glutamiini, Giant Cell Tumor (GCT) Conditioned Medium ja gentamitsiinsulfati. CHANG Medium BMC on optimeeritud toetama luuüdi rakkude efektiivsett kinnitumist ja kasvu tsütotogeneetilise analüüsiga eesmärgil. Enne luuüdi kultuurimist ei ole vaja lisada muid komponente.

OSAD

Aminohape	Väljud, hormoonid ja kasvufaktorid	Vitamiinid ja mikroelemendid
Arginin		
Asparagin		
Asparaglinhape		
Tütsiin		
Glutaminiin		
Glutamihape	pH-indikaator	Tiämäri
Gütsiin	Fenoolpunane	Pantoteenhape
Histidiin	Soolad ja ionid	Kobalaamin
Hüdroksüproolin	Naatriumkloriid	Aminobensoehape
Isoleuteiin	Koliinikloriid	
Leutsiin	Kaaliumpiirkond	Muu
Lüsiniin	Magneesiumiinsulfat	Hidraulise
Metioniin	Naatriumiomsfaat	Kasvaja pöhme
Fenüülalaniin	Kaltsiumiinsulfat	Glutatloon
Proliliin		Biotin
Seriin	Puhvrid	
Treonin	Naatriumvesi-inikarboonaat	Energia
Trüptofaan	HEPES	substraatid
Türosiin		
Valiniin		Glükoos
Vesi	Antibiootikum	Inositol
WFI kvaliteet	Gentamitsiinsulfat	

VAJALIKUD, KUID KOMPLEKTI MITTEKEUULUVAD MATERJALID JA VAHENDID

- Plastist steriilised tsentrifugikatsutid ja rakukultuuri pudelid
- CO₂ inkubatori temperatuuril 37 °C
- Lauatsentrifug
- Vortex-mikser
- Colcemid Stock Solution, 10 µg/ml
- Potassium Chloride Solution, 0,075 M
- Fixative Solution, Methanol:Acetic Acid (3 : 1)

KVALITEEDI TAGAMINE

Saavutataval tulemust võivad mõjudata mitmed tegurid, sh proovide pärilolu, kultuurimistimingimused ja reaktiivide valik. Kasutajatel soovitatatakse igat uut reaktiivipariid paralleelselt analüüsida teadeolevalt sobiva aktiivusega võrdlusmaterjaliga, enne kui see võetakse rutinissesse kasutusse. Iga CHANG Medium BMC partii jõudlust on testimud kliinilistel luuüdikultuuridel sõltumatus kliinilises tsütotogeneetikalaboris ja võrreldud kontrollsoötomega. Tulemused on esitatud partii spetsiifilises analüüsiseetikaadis.

ETTEVALMISTUSED KASUTAMISEKS

CHANG Medium BMC tuleb üles sulatada üleöö külmkapis (2–8 °C) ja seejärel homogeensuse tagamiseks õrnalt segada. Viige aseptilist tehnikat kasutades 10 ml soodet steriliisesse kultuuripudelisse ning lasakaalustage temperatuuril 37 °C koheseks kasutamiseks luuüdi kultuuridega.

Markus. Tootes CHANG Medium BMC tekivad sageli kalsiumoksalatiid kristallid. Nende kristallide esinemine ei ole põhjustanud kahjuliku toimet toote jõudlusele.

KASUTUSJUHEND

Proovi ettevalmistamine

Kasutage 0,5 kuni 1,0 ml naatriumhepariniseeritud luuüdi aspirati. Tsütotogeneetilistes uuringutes ei sobi liitiumheparini, EDTA ega itisitraantikoagulantid.

- Üle 5 ml luuüdi aspirati puuh välti olla tegu hemodilutsiooniga. Luuüdi fraktsiooni isolerimiseks kasutage Isentrifugi.
- Kui proov tuleb transportaines, siis Isentrifugi seda ja eemaldage transpordaine (supernant). Inokuleerige allesjäänud aspiraadifraktsiooni kasutades.

Lisateabe saamiseks nende toodele kasutamise kohta peavab laborid tulvuma oma prosoleeruride ja protokolidega, mis on välja töötatud ja optimeeritud spetsiaalselt nende individuaalse meditsiiniprogrammi jaoks.

Luuüdi kultuur

Sildistage kõik kultuurianumad patsiendi nime, proovi numbril ja kultuuri tüübiga. Iga proovi jaoks valmistage ette kultuuripudel, mis sisaldb:

- 10,0 ml CHANG Medium BMC.
- Enne proovi inokuleerimist lasakaalustage pudel temperatuurile 37 °C.
- Inokuleerige 0,5 ml (500 µl) proovi või sobiv kogus olenevalt valgete verelibilede (WBC) arvust igasse rakupudelisse, mis sisaldb 10,0 ml eeflasakaalustatud toodet CHANG Medium BMC. Lisage vähem proovi, kui WBC on kõrge (> 30 000), ja rohkem proovi, kui WBC on madal (< 5000).
4. Inkubeerige rakupudelit temperatuuril 37 °C 1–2 päeva.

Kultuuriide kogumine

- Eemaldage kultuuriid inkubatorist ja seage rakkude suspendereerimiseks õrnalt.
- Viige rakupudeli sisu üle 15 ml tsentrifugikatsutisse.
- Lisage igasse katsutisse 100 µl toodet Colcemid (10 µg/ml).
- Korkige katsutid ja seage ringikeeramise teel.
- Inkubeerige katsutid temperatuuril 37 °C 20 minutit.
- Pärast inkubeerimist tsentrifugige katsutid 8 minutit 1200 p/min (300 × g).
- Aspireerige igast katsutist ettevaliiklikult supernant.
- Resuspendeeringe rakupelleti õrnalt segades või nipsake nimetusõrmega vastu katsuti põhja.
- Lisage igasse katsutisse VÄGA AEGLASELECT 10 ml hüpotoonilist lahust (0,075 M kaaliumpiirkond), samal ajal Vortex-segades (väikseimal kiiruseel).
- Laskse katsutitel seista toatemperatuuril 20 minutit (hüpotooniline töötlus).
- Tsentrifugige katsutid 8 minutit 1200 p/min (300 × g).
- Aspireerige supernant, jätkes rakupelleti peale ümbes 1,0 ml hüpotoonilist lahust.

MÄRKUS. Olge ettevaatlik fibroosse materjaliga, mis võib pärast tsentrifugimist ulatuda rakupelletist üles supernantilisse. Viimased paar ml supernantil võib olla vajalik eemaldada käsitsi, kasutades Pasteur pipetti (mitte vaakumpiippetimise teel), et vältida kogu rakupelleti aspireerimist jäätmenöösse.

- Resuspendeeringe rakupelletit, nagu on kirjeldatud sammus 8.
- Lisage igasse katsutisse VÄGA AEGLASELECT 10 ml metanooli-äädiühakasse kinnitlit suhtega 3 : 1, samal ajal Vortex-segades (väikseimal kiiruseel).
- Laskse katsutitel seista toatemperatuuril 20 minutit (esimene kinnitamine).
- Korrake samme 11–13.
- Lisage 5 ml kinnitit, nagu sammus 14.
- Laskse katsutitel seista toatemperatuuril 10 minutit (teine kinnitamine).
- Korrake samme 16–18 (kolmas kinnitamine).
- Nüüd võib kinnititud rakupelleteid kasutada kohe slaidi ettevalmistamiseks labori standard-protseduuride kohaselt või säilitada külmkapis (2–8 °C) tulevaseks kasutamiseks.

SÄILITAMINE JA STABIILSUS

CHANG Medium BMC tuleb hoida külmulatult temperatuuril –10 °C kuni kasutamiseni. CHANG Medium BMC on juhistekohasel säilitamisel stabilne pudeli etiketile märgitud kuupäevani. Parast sulatamist võib kasutata toote jagada tööalikvoottides ja külmutada uesti hilisemaks kasutamiseks või tihedalt korkida ja hoida temperatuuril 2–8 °C kuni 30 päeva. Kaitse fluorescentvalguse eest.

ETTEVAATUSABINÖÖD JA HOIATUSED

See seade on ette nähtud kasutamiseks tervishoiutoötajatele, kes on saanud koolituse selle seadme sihtotstarbelise kasutamise alal.

CHANG Medium BMC sisaldb FBS ja GCT põhisid sõdet ning seda tuleb käiteda tavapärasest laboratoorsest ettevaatusabinööudega. Sööde sisaldb antibiootikumi (gentamitsiini), et vähendada bakteriaalse saaste võimalust, kuid sõitme jaotamisel tuleb alati rakendada aseptilist tehnikat. Arge kasutage ühtki sõdet, mis ei ole punast varvi.

MAGYAR**FELHASZNÁLÁSI JAVALLATOK**

A CHANG Medium BMC klinikai humán csontvelőtenyészetelek elsődeges tenyésztsében való alkalmazásra szolgál, kariotípus meghatározásához és más genetikai vizsgálatokhoz különöző hematológiai rendellenességek esetén.

TERMÉKSMERTETÉS

A CHANG Medium BMC egy használatra kész médium, amely FBS-t, HEPES-puffert, L-glutamini, óriásjeles tumor (giant cell tumor, GCT) kondicionált médiumot és gentamicin-szulfátot tartalmazó RPMI Medium 1640-ből áll. A CHANG Medium BMC médiumot úgy optimalizálták, hogy támogassa a csontvelőjelek hatékony sejtakciósolódását és növekedését a citogenetikai összetevő hozzádára nem szükséges.

ÖSSZETEVŐK

Aminosav	Fehérjék, hormonok és nyomelemek	Vitaminok és nyomelemek
Arginin		Folsav
Aszparagin		Nikolíniamid
Aszparaglinhape		Riboflavin
Tütsiin		Tiamin
Glutaminiin		Pantoténsav
Glutamihape	pH-indikaator	Kobalaamin
Gütsiin	Fenoolpunane	Píridoxin
Histidiin		Aminobenzoesav
Hüdroksüproolin		
Isoleuteiin		
Leutsiin		
Lüsiniin		
Metioniin		
Fenüülalaniin		
Proliliin		
Seriin		
Treonin		
Trüptofaan		
Türosiin		
Valiniin		
Vesi		
WFI kvaliteet		

Víz	Egyéb	Öriásjeles tumor
Injekcióhoz való	Sök és ionok	kondicionált
minőségű víz	Fenilalanin	medium (giant cell tumor conditioned medium, GCT-CM)
	Prolin	Kálium-klorid
	Szerin	Magnézium-szulfát
	Treonin	Nátrium-foszfát
	Triptofán	Kalcium-nitrát
	Tirozin	Kalcium-nitrát
	Valiniin	

Antibiotikum	Energiaszubsztirátorok	
Pufferek		
Nátrium-bikarbonát		
HEPES	Glükóz	
	Inositol	

SZÜKSÉGES, DE NEM BIZTOSÍTOTT ANYAGOK ÉS FELSZERELÉS

- Műanyag, sterili centrifugacsők és tenyészflaskák
- CO₂-inkubátor 37 °C-on
- Aszaliini centrifuga
- Vortex keverő
- Kolcemid tözsldat, 10 µg/ml
- Kálium-klorid oldat, 0,075 M
- Fixáloldat, melanol:ecelsav (3:1)

MINŐSÉGBIZTOSÍTÁS

A kapott eredményt számos tényező befolyásolhatja, beleérte a minták forrását, a tenyésztséi körülményeket és a reagensek kiválasztását. Javasoljuk, hogy a felhasználó minden új reagenstételét ismert, megfelelő aktivitású referenciaanyaggal párhuzamosan futtassanak a rutinszérű használat előtt. A CHANG Medium BMC minden egyes tételét klinikai csontvelőtenyészetekek tesztelik egy kontrollmédiaummal összehasonlíta, független klinikai citogenetikai laboratóriumban. Az eredményekről jelentés készül egy tételspecifikus analitikai bizonylaton.

ELŐKÉSZÍTÉS A FELHASZNÁLÁSRÁ

A CHANG Medium BMC médiumot egy éjszakán át hűtőszekrényben (2–8 °C) kell felvásztani, majd óvatosan össze kell keverni a homogenitás biztosítása érdekében. Aszéptikusan adagoljon 10 ml médiumot a sterili tenyészflaskába, és ekvílibrája 37 °C-ra a csontvelőtenyésztekhez történő azonnali felhasználáshoz.

Megjegyzés: A CHANG Medium BMC médiumban gyakran képződnek kálium-karbonát kristályok. A kristályok jelenlétéről nem mutatják ki, hogy bármilyen káros hatással lenne a termék teljesítményére.

HASZNÁLATI UTASÍTÁS

Minta-előkészítés:

Használjon 0,5–1,0 ml nátrium-heparinizált csontvelő-aspirátrumot. A lítium-heparin, az EDTA vagy a citránt antiakoagulánsok nem alkalmassak citogenetikai vizsgálatokhoz.

- Ha 5 ml-nél több csontvelő-aspirátrumot kap, lehet, hogy a minta hemodiluált. Pörgezz le a mintát a csontvelőfrakció izolálásához.
- Ha a minta transzportmédiaumban érkezik, pörgezz le a mintát és távolítsa el a transzportmédiaumot (felülözött). Végezz el az inokulációt a maradék aspirációs frakcióval.

A termékek használataéra vonatkozó további részletekért minden laboratóriumnak a saját laboratóriumi eljárásait és protokolljait kell figyelembe vennie, amelyeket specifikusan a saját orvosi programjukhoz hoztak létre és optimalizáltak.

Csontvelőtenyész:

Feliratkozza az összes tenyésztedényt a beteg nevével, a mintaszámmal és a tenyészét tipusával. minden egyes mintához készítsen el egy flaskát, amely a következőket tartalmazza:

- 10,0 ml CHANG Medium BMC.
- Ekvílibrája a flaskát 37 °C-ra a minta inokulációjához előtt.
- Minden egyes előzetesen ekvílibráált, 10,0 ml CHANG Medium BMC médiumot tartalmazó flaskához adjon 0,5 ml (500 µl) mintát vagy a megfelelő mennyiséget a fehérvésejek számától (white blood cell, WBC) függően. Kevesebb mintát adjon hozzá, ha a WBC magas (> 30 000), illetve több mintát, ha a WBC alacsony (< 5000).
- Inkubálja a flaskát 37 °C-on 1–2 napig.

A tenyésztek összegyűjtése:

- Vegye ki a tenyészleteket az inkubárból, és óvatosan forgassa a sejtek újabb felsziszpendálásához.
- Tegye át a flaska tartalmát egy 15 ml-es centrifugacsőbe.
- Mindegyik csőhöz adjon 100 µl kolcemid tözsldatot (10 µg/ml).
- Zárja le a csőveket, és keverje össze azokat a csők fel-le fordításával.
- Inkubálja a csőveket 37 °C-on 20 percig.
- Az inkubálás után centrifugálja a csőveket 8 percig 1200 rpm-en (300 × g).
- Óvatosan szívja le a felülöszöt az egyes csővekből.
- Szuszpendálja fel újra a sejtpelletet óvatosan összekereste vagy mutatóujjal megpróbálva a cső alját.
- NAGYON LASSAN adjon 10 ml hipotóniás oldatot (0,075 M kálium-klorid) minden csőhöz (a legalacsonyabb értéken végzett) vortexelés közben.
- Hagyja a csőveket szobahőmérsékleten 20 percig állni (hipotonias kezelés).
- Centrifugálja a csőveket 8 percig 1200 rpm-en (300 × g).
- Szívja le a felülöszöt, körülbelül 1,0 ml hipotóniás oldatot hagyva a sejtpelletet felett.

MEGYEGYZÉS: Ügyeljen a szálas anyagra, amely a centrifugálás után a sejtpelletből a felülöszöbő kerülhet. Lehet, hogy az utolsó néhány ml felülöszöt kézzel kell eltávolítani egy Pasteur-pipettával (nem vákuumszívással) a teljes sejtpellet hulladék tartályba szívásának elkerülése érdekében.

- Szuszpendálja fel újra a sejtpelletet a 8. lépésben leírtak szerint.

14. NAGYON LASSAN adjon 10 ml 3:1 arányú metanol:ecelsav fixálószert minden csőhöz (a legalacsonyabb értéken végzett)

15. Hagya a csőveket szobahőmérsékleten 20 percig állni (első fixálás).

- Ismételje meg a 11–13. lépést.

17. Adjon hozzá 5 ml fixálószert, ahogy a 14. lépében.

18. Hagya a csőveket szobahőmérsékleten 10 percig állni (második fixálás).

19. Ismételje meg a 16–18. lépést (harmadik fixálás).

20. Ekkor a fixált sejtpelletek azonnali metszésekhez a laboratórium standard protokolloja szerint, vagy hűtőszekrényben (2 és 8 °C között) tárolhatók későbbi felhasználásra.

TÁROLÁS ÉS STABILITÉS

A CHANG Medium BMC médiumot fagyasztva, –10 °C alatt kell tárolni a felhasználásig. A CHANG Medium BMC stabil az üveg címkéjén feltüntetett lejáratig időpontig, amennyiben fagyasztva tárolják. A felvásztást követően a fel nem használt termék alkalmazására szánták.

A CHANG Medium BMC FBS-t és GCT-kondicionálás médiumot tartalmaz, és az általános laboratóriumi övintézkedések szerint kell kezelni. A médium antibiotikumot (gentamicin) tartalmaz a bakteriális szennyeződés valószínűségének csökkenése érdekében, de a médium adagolásakor minden aszéptikus technikákat kell alkalmazni. Ne használja a médiumot, ha nem piros színű.

NAUDOJIMO INDIKACIJA

„CHANG Medium BMC“ terpė yra skirta pirminėms klinikinėms žmogaus kaulų čiulpų lastelių kultūroms auginti atliekančių karotilipavimo ir kitus genetinius hematologinius patologijos tyrimus.

TAISO APRAŠYMAS

„CHANG Medium BMC“ yra paruošta naudoti terpė, kurios sudėtyje yra RPMI 1640 terpės su FBS, HEPES buferinu tirpalu, L-glutamino, kondicionuotas terpės iš gigantinių lastelių naviko (GCT) linijos ir gentamicino sulfato. „CHANG Medium BMC“ terpė yra optimizuota palaijatyti veiksmingą kaulų čiulpų lastelį prisitvirtinimą ir augimą kultivuojant citogenetinių tyrimų kultūras. Prieš kultivuojant kaulų čiulpų pasėlius, nereikia prideti jokių kitų sudėtinėlių medžiagų.

SUDEDAMOSIOS DALYS

Aminorūgštis	Ballymai, hormonai ir augimo faktoriai	Vitaminai ir mikroelementai
Argininas	Jaučio embriono krauju serumas (FBS)	Folio rūgštis
Asparagine	Nikotinamidas	Riboflavinas
Asparo rūgštis	Kobalaminas	Pantoteninė rūgštis
Cistinas	Pridoksinas	Aminobenzoinė rūgštis
Glutaminas	Druskos ir ionai	Cholin chloridas
Glutamo rūgštis	Natrio chloridas	Kalio chloridas
Glicinas	Fenolio raudonasis	Magnio sulfatas
Histidinas	Natrio fosfatas	Natrio sulfatas
Hidrokspiprolinas	Kalcio nitratas	Kalcio nitratas
Izoleucinės	Buterijai	Glutonatas
Leucinės	Natrio bikarbonatas	Biotinias
Lizinas	HEPES	Energetiniai substratai
Metioninas	Antibiotikas	Gentamicino sulfatas
Fenilaninės	Gentamicino sulfatas	Glukozė
Prolinės	Inozitolis	Inozitolis
Serinas		
Treoninės		
Triptofanas		
Tirozinės		
Vallinas		
Vanduo		
Iniekicinė vandenė kokybė		

REIKALINGOS, BET PAKUOTĖJE**NEPATEIKTOS MEDŽIAGOS IR ĮRANGA**

1. Steriliš plastikiniai centrifuginiai mėgintuveliai ir kultivavimo flakonai
2. CO₂ inkubatorius, 37 °C
3. Stalinié centrifuga
4. Sükurién maišykla
5. Kolcemido pradinis tirpalas, 10 µg/ml
6. Kalio chlorido tirpalas, 0,075 M
7. Fiksatyvo tirpalas, metanolis: acto rūgštis (3:1)

KOKYBÉS UŽTIKRINIMAS

Gautiems rezultatait, ištaisos galia turėti keletas veiksniai, išskaitant mėgininį šaltinius, kultūrą, auginimo savygas ir reagentų pasirinkimą. Rekomenduojama prieš pradendant iekvienvios naujos partijos reagentus naudoti reguliarai, juos pirmiausia išbandyti lygiant su tuo pat metu tiriamais pamatinėmis žinomo tinkamai aktyvumo medžiagos kiekiais. Kiekvienos partijos „CHANG Medium BMC“ terpių veikimas buvo išbandytas auginant klinikines kaulų čiulpų lastelių kultūras nepriklausomai klinikinių citogenetinių tyrimų laboratorijoje ir lyginant su kontroline terpe. Rezultatai pateikiama atskirai, kiekjoms paragnotuose analizės sertifikatuose.

PARUOŠIMAS NAUDOTI

„CHANG Medium BMC“ terpė reikia per naktį atitirpinti saldytuve (2 °C-8 °C), po to atsargiai sumaišyti iki vienalytės konstistencijos. Laikydami aseptikos reikalavimų, po 10 ml terpės supilstykite į sterilišius kultivavimo flakonus ir, nusistovėjus iki 37 °C būsenos, tuo pat naudokite kaulų čiulpų lastelių kultūroms.

Pastaba. „CHANG Medium BMC“ terpėje dažnai susidaro kalcio karbonato kristalai. Nenustatyta, kad šiuo kristalu būvimas kaip nors pakanktu produkto funkcinėms savybėms.

NAUDOJIMO NURODYMAI**Mėginų ruošimas**

Mėginus ruoškite iš 0,5-1,0 ml kaulų čiulpų aspirato, heparinizuoto natrio heparinu, Ličio heparinas, EDTA ar citratinai antikoagulantai citogenetiniams tyrimams netinka.

- Jei paimita daugiau kaip 5 ml kaulų čiulpų aspirato, mėginis gali būti paveiktas hemodiluocijui. Mėginį centrifuguokite atskiriame kaulų čiulpų frakciją.
- Jei mėginys pristatomas transportavimo terpjėje, mėginį centrifuguokite ir nusiurbkite transportinę terpę (superantanta). Likusi aspirato frakciją naudokite kultūrai seti.

Išsammeinių šiuo produkto naudojimo gairių iekvienna laboratorija turi ieškoti savo vidaus darbo tvarkos taisiuklėje ir metodiniuose nurodymuose, specialiai parengtuose ir optimizuotuose pagal atskiruos medicininius programas nuostatas.

Kaulų čiulpų lastelių kultūra

Ant visų kultivavimo indu pažymėkite paciento pavardę, mėgininį numerį ir kultūros tipą. Kiekviename mėginui paruošite po flakoną, kuriamo yra:

1. 10,0 ml „CHANG Medium BMC“ terpés.
2. Priえ užsėdami mėginio kultūrą, pasiekite, kad nusistovėtų 37 °C flakono turinio temperatūra.
3. Iš kiekvieno flakono 10,0 ml pusiausvirosius būsenos „CHANG Medium BMC“ terpę pasiekite po 0,5 ml (500 µl) mėginio arba kita atitinkamai kiekį, priklausomai nuo leukocitų (WBC) skaičiaus. Jei leukocitų skaičius yra didelis (>30 000), išterpkitė mažiau mėginį, o jei leukocitų skaičius yra mažas (<5000) – daugiau mėginį.
4. Inkubuokite flakoną 37 °C temperatūroje 1-2 dienas.

Kultūrų surinkimas

1. Išimkite kultūras iš inkubatoriaus ir atsargiai sukiodami resuspenduokite lasteles.
2. Flakono turinį perpilkite į 15 ml talpos centrifuginų mėgintuveli.
3. Iš kiekvieno mėgintuvėlio išlaikinkite po 100 µl pradinio „Colcemid“ tirpalą (10 µg/ml).
4. Mėgintuvėlius uždenkite į vertydamis sumaišykite turinį.
5. Mėgintuvėlius inkubuokite 20 minučių 37 °C temperatūroje.
6. Po inkubacijos mėgintuvėlius 8 minutes centrifuguokite esant 1200 apsisukimų per minutę (300 x g).
7. Atsargiai iš kiekvieno mėgintuvėlio nusiurbkite supernatantą.
8. Atsargiai maišydami arba rodomoju ir pirstu patapšnodami mėgintuvėlio dugną, resuspenduokite lastelį nuosėdas.
9. Purtydami sükurinėje maišyklyje (lėčiausiai režimu), iš kiekvieno mėgintuvėlio LABAI LĒTAI išplikite po 10 ml hipotoninio tirpalio (0,075 M kalio chlorido).
10. Palikite mėgintuvėlius 20 minučių pastovėti kambario temperatūroje (hipotoninis apdrojimas).
11. Mėgintuvėlius 8 minutes centrifuguokite esant 1200 apskukų per minute (300 x g).
12. Nusiurbkite supernatantą, virš nusėdusių lastelių palikdami apie 1,0 ml hipotoninio tirpalą.

PASTABA. Reikia būti atsargiems, nes po centrifugavimo į viršnuosėdinį skystį iš nusėdusių lastelių gali būti nusitęsusiu skaidulinė medžiaga. Paskutinius kelis supernatantinės mililitrus gali tekti nusiurbti Pastero pipete (nenaudojant vakuminiu siurbimu), kad į atliekų konteinerį nebūtų išiurbta visa lastelė nuosėdų masė.

13. Lastelė nuosėdas resuspenduokite, kaip aprašyta 8 etape.
14. Purtydami sükurinėje maišyklyje (lėčiausiai režimu), iš kiekvieno mėgintuvėlio LABAI LĒTAI išplikite po 10 ml santiukiu 3:1 paruošto metanolio ar acto rūgšties fiksatyvo mišinio.

TÜRKÇE**KULLANIM ENDİKASYONU**

CHANG Medium BMC çeşitli hematolojik bozuklıkların karyotiplemesi ve diğer genetik testler için yapılan klinik İnsan Kemik İliği Kültürlərində primer kültür için kullanılmak üzere tasarlanmıştır.

ÇİHAZ TANIMI

CHANG Medium BMC, FSS, HEPES tamponu, L-glutamin, Dev Hücreli Tümör (GCT) Koşullarındırılmış Vasat ve Gentamisin Sülfatı RPMI Medium 1640'tan oluşan, kullanıma hazır bir vasatır. CHANG Medium BMC sitogenetik analiz için etkili hücre yapışması ve kemik iliği hücrelerinin üremesini desteklemek üzere optimize edilmiştir. Kemik iliği kültürünün yapılmamasından önce herhangi bir bileşen eklenmesi gerekmek.

BİLEŞENLER

Amino Asit	Proteiner	Vitaminler ve eser elementler
Arjinin	Hormonlar ve Büyüme Faktörleri	Folik asit
Asparajin	Aspartik Asit	Nikotinamid
Aspartik Asit	Fetal siğir serumu (FSS)	Riboflavin
Sistin	Glutamin	Tiyamin
Glutamik Asit	Glutamik Asit	Pantotenik asit
Glisin	pH Göstergesi	Kobalamin
Histidin	Fenol kırmızısı	Piridoksin
Hidroksiprolin	Tuzlar ve Iyonlar	Aminobenzoik asit
Izolösin	Sodyum klorür	Diger
Lisin	Kolin klorür	Dev hücreli tümör kozülendirilmiş vasat (GCT-CM)
Metyonin	Potasium klorür	Magnezyum sülfat
Fenilalanin	Fenol fosfat	Sodyum fosfat
Prolin	Kalsiyum Nitrat	Glutatyon
Serin	Treonin	Biotin
Treonin	Tamponlar	Enerji Substratları
Tryptofan	Sodyum bikarbonat	Glukoz
Tirozin	HEPES	Inositol
Valin	Antibiyotik	Enerji Substratları
Su	Gentamisin Sülfat	
Enjeksiyonluk		
Su Kalitesi		

GEREKLİ AMA SAĞLANMAYAN MATERİYAL VE EKİPMAN

1. Plastik Steril Santrifüj Tüpleri ve Kültür Flaskları
2. 37 °C de CO₂ İnkubatörü
3. Tezgah Santrifüjü
4. Vortex Karıştırıcı
5. Colcemid Stok Solüsyonu, 10 µg/mL
6. Potasyum Klorür Solüsyonu, 0,075 M
7. Fiksatif Solüsyon, Metanol:Asetik Asit (3:1)

KALİTE GÜVENCE

Numuneler, kültür koşulları ve reaktiflerin seçimi dahil birkaç faktör elde edilen sonucu etkileyebilir. Kullanıcıların rutin kullanımına soñadan önce her yeni reaktif partisini bilinen uygun aktiviteye sahip referans materyalle birlikte çalışmalari önerilir. Her CHANG Medium BMC lotu bağımsız bir Klinik Sitogenetik Laboratuvarı bir kontrol vasatıyla karşılaştırılır. Klinik Kemik İliği Kültürlərində performans testinden geçmiştir. Sonuçlar lota özel bir Analiz Sertifikasında bildirilir.

KULLANIM HAZIRLIĞI

CHANG Medium BMC buzdolabında (2 °C - 8 °C) gece boyunca çözüldükten sonra homojenliği sağlamak için hafifçe karıştırılmışdır. Steril kültür flakonlarına aseptik olarak 10 mL vasat koynuy ve kemik iliği kültürlerinde hemen kullanımlı için 37 °C'de dengeleyin.

Not: CHANG Medium BMC içinde sıkılıkla kalsiyum karbonat kristalleri olur. Bu kristallerin varlığının ürün performansı üzerinde herhangi bir olumsuz etkisi olduğu gösterilmemiştir.

KULLANMA TALİMATI**Örnek Hazırlama:**

0,5 - 1,0 mL sodyum heparinize kemik iliği aspirati kullanılır. Litium heparin, EDTA veya sitrat antikoagulanları sitogenetik çalışmalar için uygun değildir.

- 5 mL üzerinde kemik iliği aspirati alınırsa örnekte hemodilüsyon olabilir. Kemik iliği fraksiyonunu izole etmek için numuneyi santrifüleyin.
- Numune transfer vasatında gelirse örneği santrifüleyip transfer vasatını (süpernatan) alın. Kalan aspirat fraksiyonunu kullanarak inokülasyon yapın.

Bu ürünlerin kullanımı hakkında ek ayrıntılar aside her laboratuvar kendi ayrı tıbbi programınız için özel olarak geliştirilmiş ve optimize edilmiş, kendi laboratuvar işleriyle prototolerine başvurmaları.

Kemik İliği Kültürü:

Tüm kültür kapları hasta adı, numune numarası ve kültür tipiyle etiketleyin. Her numune için şunları içeren bir flask hazırlayın:

1. 10,0 mL CHANG Medium BMC.
2. Numune inokülasyonundan önce flask 37 °C'ye dengeleyin.
3. 10,0 mL önceden dengelenmiş CHANG Medium BMC içeren her flaska 0,5 mL (500 µL) veya akyuvar sayımına göre uygun miktarда numune inokülasyonu yapın. Akyuvalar yüksekte (> 30.000) daaha az numuna veya akyuvalar düşükse (< 5.000) daaha fazla numune eleyin.
4. Flaskı 37 °C'de 1 - 2 gün inkübeye edin.
5. Kültürlər inkubatörde çokin ve hücreleri tekrar süspansiyon haline getirmek için yavaşça çevirin.
6. Flaskin içeriğini bir 15 mL santrifüj tüpüne aktarın.
7. Her tüpe 100 µL stok Colcemid (10 µg/mL) eleyin.
8. Tüpərin kapaklı kapatın ve tərs düz edərək karıştırın.
9. Tüpəri 37 °C'de 20 dakika inkübeye edin.
10. İnkubasiyondan sonra tüpler 8 dakika boyunca 1200 devir/dk (300 x g) hızında santrifüleyin.
11. Her tüpen süpernatanı dikkatle aspire edin.
12. Hücre pelletini hafifçe karıştırarak veya tüpin alt kusmına işaret parmağıyla fiske vurarak tekrar süspansiyon haline getirin.
13. COK YAVAŞÇA vorteksleme sırasında (en düşük ayarla) her tüpe 10 mL hipotonik solüsyon (0,075 M Potasyum Klorür) eleyin.
14. Tüpəri oda sıcaklığında 20 dakika bırakın (hipotonik muamele).
15. Tüpəri oda sıcaklığında 1200 devir/dk (300 x g) hızında santrifüleyin.
16. Süpernatanı aspire edip hücre pelletini üzerinde yaklaşıklı 1,0 mL hipotonik solüsyon bırakın.
- NOT: Santrifüjlenmeden sonra hücre pelletinden yukarıda süpernatan içine uzanabilecek fibröz materyal açısından dikkatli olun. En son birkaç mL süpernatanın tüm hücre pelletinin atık kabina aspirasyonundan kaçınmak üzere bir Pasteur pipeliyle (vakum aspirasyonu kullanmadan) alınması gerekebilir.
17. Hücre pelletini 8. adımda tanımladığı gibi tekrar süspansiyon haline getirin.
18. COK YAVAŞÇA vorteksleme sırasında (en düşük ayarla) her tüpe 10 mL 3:1 Metanol:Asetik asit fiksatif ekleyin.
19. Tüpəri oda sıcaklığında 10 dakika bırakın (ikinci sabitleme).
20. 11 - 13. adımları tekrarlayın.
21. Adım 14'teki gibi 5 mL fiksatif ekleyin.
22. Tüpəri oda sıcaklığında 10 dakika bırakın (ikinci sabitleme).

SAKLAMA VE STABİLİTE

CHANG Medium BMC kullanımına hazır olana kadar -10 °C'nın altında doldurulmuş şekilde saklanmalıdır. CHANG Medium BMC doldurulmuş olarak muhafaza edildiğinde şiese etiketinde gösterilen son kullanma tarihine kadar stabbılır. Çözüldüğün sonra kullanılmamış herhangi bir ürün çalışma aksiyolarına aktarılıp daha sonra kullanılmak üzere tekrar doldurulabilir veya kapağı sıkıca kapatıp 2 °C - 8 °C'de 30 güne kadar saklanabilir. Floresan ışıkta korunur.

ÖNLEMLER VE UYARILAR

Bu cihazın, cihaz kullanımının amaçlanmış olduğu belirlilen uygulamanın dahil olduğu işler konusunda eğitimli personelle kullanılması amaçlanmıştır.

CHANG Medium BMC, FSS ve dev hücreli tümör koşullarındırılmış vasat içeri ve evresel laboratuvar önlemlerine göre kullanılmadır. Vasat, bakteriyel kontaminasyon potansiyelini azaltmak için antibiyotik (gentamisin) içeri ama vasatı verenin daima aseptik teknikler kullanılmadır. Kırmızı renkte olmayan herhangi bir vasatı kullanmayın.

INDIKÁCIA NA POUŽITIE

CHANG Medium BMC je učené na použitie pri primárnej kultivácii klinických kultúr ľudskej kostnej drene na karyotypovanie a iné genetické testy na hematologické poruchy.

POPSÍ ZARIADENIA

CHANG Medium BMC je médium určené na priame použitie obsahujúce RPMI Medium 1640, s FBS, purom HEFES, L-glutamínom, médiom upraveným veľkobunkovým karcinómom (GCT) a gentamicínusfátom. CHANG Medium BMC je optimalizované na podporu výšinného uchytienia buniek a rast buniek kostnej drene na cytogenetickú analýzu. Pred kultiváciou kostnej drene sa nevyžaduje pridanie žiadnych komponentov.

ZLOŽKY

Aminokyseliny	Bielkoviny, hormóny a rastové faktory	Vitaminy a složové prvky
arginín	fétaľné boviné sérum (FBS)	kyselinová listová nikotinotiamid
asparagín		riboflavín
kyselina asparágová		tiamin
cystín	Indikátor pH fenolová červená	kyselina pantoténová
glutamin		bokalamin
kyselina glutamátová	Soli a ióny chloríd sodný	pyridoxin
glycin	chloríd varenatý	kyselina aminobenzoová
histidín	chloríd draselný	
hydroxyproplín	síran horečnatý	
izoleucín	fosfát sodný	Iné médium upravené veľkobunkovým
leucín	dusičná varenápenatý	
lyzin	Púre hydrogénuhlíčitan sodný	
metionín	HEPES	
fenylalanín		
prolin		
serín		
treonín		
tryptofán		
tyrozín		
valin		
Voda	Antibiotikum gentamicínsulfát	Energetické substráty glukóza inositol
qualita vody na injekciu		

VÝŽADOVANÉ, NO NEDODÁVANÉ MATERIÁLY A VYBAVENIE

- Plastové sterilné skúmavky na odstredovanie a fláštičky na kultúru
- Inkubátor CO₂ pri teplote 37 °C
- Laboratórna odstredívka
- Virívý mixér
- Kmeňový roztok Colcemid, 10 µg/ml
- Roztok chloridu draselného, 0,075 M
- Fixačný roztok, metanol : kyselina octová (3:1)

KONTROLA KVALITY

Viaceré faktory, vrátane zdroja vzoriek, podmienok kultivácie a výberu reagencii, môžu ovplyvniť získaný výsledok. Používateľom sa odporúča, aby každú novú šaržu reagencie spustili paralelne s referenčným materiálom známej vhodnej aktivity predtým, než ju začnú bežne používať. Každa šarža CHANG Medium BMC má vyskúšaný výkon na klinických kultúrach ľudskej drene v nezávislosti od laboratória pre klinickú cytogenetiku porovnaním s kontrolným médiom. Výsledky sa zaznamenávajú na certifikát analýzy pre špecifickú šaržu.

PRÍPRAVA NA POUŽITIE

CHANG Medium BMC sa má rozmiariť v chladničke cez noc (2 °C – 8 °C) a potom jemne premiešať, aby sa zaisťila homogénnosť. Asepticky nadávkujte 10 ml média do sterilných fláštičiek na kultúru a uštáťte na teplotu 37 °C na okamžité použitie pre kultúry kostnej drene.

Poznámka: V CHANG Medium BMC sa bežne tvoria kryštály uhlíčitanu varenápeného. Nepruskážalo sa, že by prítomnosť týchto kryštálov mala dopad na výkon tohto produktu.

NÁVOD NA POUŽITIE

Príprava vzorky:

Použite 0,5 až 1,0 ml aspirátu kostnej drene ošetroňené heparinom sódnym. Lítium heparín, EDTA alebo citrátová antikoagulancia sú nevhodné v chladničke (2 °C – 8 °C) na budúce použitie.

- Ako dostanete viac než 5 ml aspirátu kostnej drene, vzorka môže byť zriedená. Vzorku odstredte, aby sa izolovala frakcia kostnej drene.
- Ak vzorka príde v prenosom médiu, odstredte ju a odstráňte prenosné médium (supernatant). Načukajte pomocou zostávajúcej frakcie aspirátu.

Ďalšie podrobnosti o použítiu týchto produktov by malo každé laboratórium čerpať zo svojich vlastných laboratórnych postupov a protokolov, ktoré boli špecificky vypracované a optimalizované pre vaš individuálny medicínsky program.

Kultivácia kostnej drene:

- Všetky nádoby s kultúrami označte menom pacienta, číslom vzorky a typom kultúry. Pre každú vzorku pripravte fláštičku obsahujúcu:
- 10,0 ml CHANG Medium BMC.
 - Fláštičku ustáťte na teplotu 37 °C pred načokávaním vzorky.
 - Načukajte 0,5 ml (500 µl) vzorky, alebo primerané množstvo podľa počtu bielych krvinkov (WBC), do každej fláštičky obsahujúcej 10,0 ml vopred ušľádeného CHANG Medium BMC. Ak je WBC vysoký (> 30 000), pridajte menej vzorky, alebo ak je WBC nízky (< 5 000), pridajte viac vzorky.
 - Fláštičku inkubujte pri teplote 37 °C 1 – 2 dni.

Zber kultúr:

- Kultúry vyberte z inkubátora a jemne zavíre, aby sa bunky resuspendovali.
- Obsah fláštičky preneste do 15 ml skúmavky na odstredovanie.
- Do každej skúmavky pridajte 100 µl kmeňového Colcemidu (10 µg/ml).
- Na skúmavky nasadte vrchnáky a premiešajte prevrátením.
- Skúmavky inkubujte pri teplote 37 °C 20 minút.
- Po inkubácii skúmavky odstredujte 8 minút pri 1 200 otáčok za minútu (300 x g).
- Z každej skúmavky pozorne aspirujte supernatant.
- Bunkovú peletu resuspendujte jemným zmiešaním alebo poklepaním dna skúmavky ukazovákom.
- VELMI POMALY pridajte do každej skúmavky 10 ml hypotonického roztoku (0,075 M chloridu draselného) za vŕenia (na najnižších obrátkach).
- Skúmavky nechajte odstáť pri izbovej teplote 20 minút (hypotonické osérenie).
- Skúmavky odstredujte 8 minút pri 1 200 otáčok za minútu (300 x g).
- Aspirujte supernatant, pričom ponechajte asi 1,0 ml hypotonického roztoku nad bunkovou peletou.

POZNÁMKA: Dávajte pozor na vláknitý materiál, ktorý môže trčať z bunkovej pelety do supernatantu po odstredení. Posledných pár ml supernatantu môže byť potrebné odstrániť ručne Pasteurovou pipetou (bez použitia vakuového odsávania), aby sa do odpadovej nádoby neaspirovala celá bunková peleta.

- Bunkovú peletu resuspendujte tak, ako je popísané v kroku 8.
- VELMI POMALY pridajte do každej skúmavky 10 ml 3:1 metanol : fixačná kyselina octová za vŕenia (na najnižších obrátkach).
- Skúmavky nechajte odstáť pri izbovej teplote 20 minút (prvá fixácia).
- Zopakujte kroky 11 – 13.
- Pridajte 5 ml fixačného roztoku tak ako v kroku 14.
- Skúmavky nechajte odstáť pri izbovej teplote 10 minút (druhá fixácia).

NÁVOD NA POUŽITIE

Príprava vzorky:

Použite 0,5 až 1,0 ml aspirátu kostnej drene ošetroňené heparinom sódnym. Lítium heparín, EDTA alebo citrátová antikoagulancia sú nevhodné v chladničke (2 °C – 8 °C) na budúce použitie.

UCHOVÁVANIE A STABILITA

CHANG Medium BMC sa má uchovať pri teplote pod -10 °C, až kým nebude pripravené na použitie. CHANG Medium BMC bude stabilné až do dátumu expirácie vytlačeného na označení fláše, ak sa uchováva zamrazené. Po rozmazení všetok nepoužitý produkt možno nadávkovať do pracovných alíkvôt a znova zmažať na neskoršie použitie, alebo tešne nasadiť vrchnák a uchovať pri teplote 2 °C až 8 °C do 30 dní. Chráňte pred fluorescenčným svetlom.

BEZPEČNOSTNÉ OPATRENIA A VAROVANIA

Toto zariadenie je určené na použitie personálom vyškoleným na procedúry, ktoré zahrňajú aplikáciu, na ktorú je toto zariadenie určené.

CHANG Medium BMC obsahuje médium upravené pomocou FBS a GCT a musí sa s ním manipulovať s použitím všeobecných laboratórnych bezpečnostných opatrení. Médium obsahuje antibiotikum (gentamicín) na zníženie možnosti bakteriálnej kontaminácie, no pri dávkovaní médiá sa vždy musia použiť aseptické techniky. Nepoužívajte žiadne médium, ktoré nemá červenú farbu.

БЪЛГАРСКИ**ПОКАЗАНИЯ ЗА УПОТРЕБА**

CHANG Medium BMC е предназначена за използване в първично култивиране на клинични култури на човешки костен мозък за кариотипизиране и други генетични тествания на различни хематологични нарушения.

ОПИСАНИЕ НА ИЗДЕЛИЕТО

CHANG Medium BMC е готова за употреба среда, която се състои от RPMI Medium 1640 + FBS (фетален говежди serum), буфер HEPES, L-глутамин, Giant Cell Tumor (GCT) Conditioned Medium (кондиционирана среда от гигантскоклетъчен тумор (GCT)) и гентамицин сулфат. CHANG Medium BMC е оптимизирана да поддържа ефективно прикрепяне на клетки и растеж на клетки на костен мозък за цитогенетични изследвания. Не е необходимо добавяне на компоненти преди култивиране на костен мозък.

КОМПОНЕНТИ

Аминокиселина	Протеини, хормони и растежни фактори	Витамини и микроДобавки
Аргинин		Фолиевая киселина
Аспарагин		Никотинамид
Аспарагинова киселина	Фетален говежди serum (FBS)	Рибофлавин
Цистин		Тиамин
Глутамин		Пантотенова киселина
Глутаминова киселина	РН индикатор	Фенол, червен
Глицин		Соли и ионы
Хистидин	Натриев хлорид	Натриев хлорид
Хидроксипролин	Холин хлорид	Холин хлорид
Изолеуцин	Калиев хлорид	Калиев хлорид
Лейцин	Магнезиев сульфат	Магнезиев сульфат
Метионин	Натриев фосфат	Натриев фосфат
Фенилаланин	Калциев нитрат	Калциев нитрат
Пролин		Буфери
Серин		Натриев бикарбонат
Треонин		Натриев HEPES
Триптофан		
Тирозин		Антибиотик Гентамицин
Валин		Сулфат Глюкоза
		Инозитол

НЕОБХОДИМИ МАТЕРИАЛИ И ОБОРУДВАНЕ, КОИТО НЕ СА ДОСТАВЕНИ

1. Пластмасови, стерилни, центрофужни епруветки и слайд-флакони за култури
2. CO₂, инкубатор за 37 °C
3. Настолна центрофуга
4. Вихров миксер
5. Изходен разтвор на колцемид, 10 µg/ml
6. Разтвор на калиев хлорид, 0,075 M
7. Фиксиращ разтвор, метанол:оценка киселина (3:1)

КОНТРОЛ НА КАЧЕСТВОТО

Няколко фактори, включително източника на спесимени, състоянието на културите и избора на реагенти, могат да повлият на получения резултат. На потребителите се препоръча всяка нова партида реагент да се изпитва паралелно с референтен материал с установена подходяща активност преди въвеждане в рутинна употреба. Всяка партида CHANG Medium BMC е тествана за ефективност върху клинични култури на костен мозък в независима клинична лаборатория по цитогенетика спрямо контролна среда. Резултатите са посочени в конкретния за партидата Сертификат за анализа.

ПОДГОТОВКА ЗА УПОТРЕБА

CHANG Medium BMC трябва да се размрази при температура под -10 °C до момента на използването ѝ. CHANG Medium BMC е стабилна до изтичане на срока на годност, посочен върху етикета на бутилката, когато се съхранява замразена. След размразяване количеството неизползван продукт може да бъде разпределено в работни аликвотни части и замразено отново за употреба на по-късен етап или да бъде пълно затворено с капачка и съхранено при температура от 2 °C до 8 °C за 30 дни. Пазете от флуоресцентна светлина.

ЗАБЕЛЕЖКА: Бъдете внимателни за влакнест материал, който може да се подава извън пелетата от клетки и да достига до супернатанта след центрофугиране. Последните няколко ml супернатант може да е необходимо да се отстрани на ръка с помощта на пилета тип Пастир (без използване на вакуума аспирация), за да се избегне аспирация на цялата пелета от клетки в контейнера за отпадък.

13. Ресуспендирайте пелетата от клетки, както еписано в стълка 8.

14. МНОГО БАВНО добавете 10 ml фиксиращ разтвор 3:1 метанол:оценка киселина към всяка епруветка, докато размесвате с вихров миксер (при най-ниската настройка).

15. Оставете епруветките на стайна температура за 20 минути (първо фиксиране).

16. Повторете стълки 11 – 13.

17. Добавете 5 ml фиксиращ разтвор, както еписано в стълка 14.

18. Оставете епруветките на стайна температура за 10 минути (второ фиксиране).

19. Повторете стълки 16 – 18 (трето фиксиране).

20. На този етап фиксираните пелети от клетки могат да се използват незабавно за пригответяне на слайд съгласно стандартния протокол на лабораторията или да се съхранят в хладилник (2 – 8 °C) за бъдеща употреба.

СЪХРАНЕНИЕ И СТАБИЛНОСТ

CHANG Medium BMC трябва да се съхранява замразена при температура под -10 °C до момента на използването ѝ. CHANG Medium BMC е стабилна до изтичане на срока на годност, посочен върху етикета на бутилката, когато се съхранява замразена. След размразяване количеството неизползван продукт може да бъде разпределено в работни аликвотни части и замразено отново за употреба на по-късен етап или да бъде пълно затворено с капачка и съхранено при температура от 2 °C до 8 °C за 30 дни. Пазете от флуоресцентна светлина.

ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ И ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ Това изделие е предназначено да се използва от персонал, обучен в процедурите, които включват планираното приложение, за което изделието е предназначено.

CHANG Medium BMC съдържа FBS (фетален говежди serum) и кондиционирана среда от GCT (гигантскоклетъчен тумор) и с нея трябва да се борави съгласно универсалните лабораторни предпазни мерки. Средата съдържа антибиотик (гентамицин) за намаляване на риска от бактериална контаминация, но трябва внимателно да се използва от културите на винаги да се използва на ръката.

2. Еквилибрирайте слайд-флакона до 37 °C с преди инокулацията на спесимена.

3. Инокулирайте 0,5 ml (500 µl) спесимен или подходящо количество в зависимост от броя бели кръвни клетки (WBC), във всеки слайд-флакон, съдържащ 10,0 ml предварително еквилибрирана CHANG Medium BMC. Добавете по-малко спесимен, ако броят WBC е висок (> 30 000), или повече спесимен, ако броят WBC е нисък (< 5 000).

4. Инкубирайте слайд-флакона при 37 °C за 1 – 2 дни.

Събиране на културите:

1. Отстранете културите от инкубатора и внимателно разлатете с кръгови движения, за да ресуспендирайте клетките.
2. Прехърътете съдържанието на слайд-флакона и с нея трябва да се борави съгласно универсалните лабораторни предпазни мерки. Средата съдържа антибиотик (гентамицин) за намаляване на риска от бактериална контаминация, но трябва внимателно да се използва от културите на винаги да се използва на ръката.
3. Добавете 100 µl изходен разтвор на колцемид (10 µg/ml) към всяка епруветка.
4. Затворете епруветките с капачка и смесете с преобърнане.
5. Инкубирайте епруветките при 37 °C за 20 минути.
6. След инкубация центрофугирайте епруветките за 8 минути при 1200 rpm (300 x g).
7. Внимателно аспирарайте супернатанта от всяка епруветка.
8. Ресуспендирайте пелетата от клетки, като размесите внимателно или като потопите дълго на епруветката с показалеца на ръката.
9. МНОГО БАВНО добавете 10 ml хипотоничен разтвор (0,075 M калиев хлорид) към всяка епруветка, докато размесвате с вихров миксер (при най-ниската настройка).
10. Оставете епруветките на стайна температура за 20 минути (хипотонично тритиране).
11. Центрофугирайте епруветките за 8 минути при 1200 rpm (300 x g).
12. Аспирарайте супернатанта, като оставите около 1,0 ml хипотоничен разтвор над пелетата от клетки.

INDIKACIJE ZA UPOTREBU

Medij CHANG Medium BMC namijenjen je za uzgoju primarne kulture kliničkih kultura ljudske koštane srži u svrhu kariotipizacije i drugih genetičkih testiranja za različite hematoškore poremećaje.

OPIS PROIZVODA

Medij CHANG Medium BMC spremjan je za upotrebu, a sastoji se od medija RPMI Medium 1640 s PBS-om, pufera HEPES, L-glutamina, kondicioniranog medija gigantocelularnog tumora (GCT) i gentamicinsulfata. Medij CHANG Medium BMC optimiran je kako bi podržao učinkovito pričvršćivanje stanica i rast stanica koštane srži za citogenetičku analizu. Nije potrebno dodavati nikakve komponente prije uzgoja kulture koštane srži.

KOMPONENTE

Aminokiselina	Proteini, hormoni i čimbenici rasta	Vitamini i elementi u travgovima
Arginin		
Asparagin	Fetalni govedi	Folna kiselina
Aspartatna kiselina	serum (FBS)	Nikolamid
Cistin		Riboflavin
Glutamin	pH indikator	Tijamin
Glutamatna kiselina	Fenol crveno	Pantotenska kiselina
Glicin		
Histidin	Soli i ioni	Kobalamin
Hidroksiprolin	Natrijev klorid	Piridoksin
Izoleucin	Koljinjev klorid	Aminobenzoalna kiselina
Leucin	Kalijev klorid	
Lizin	Magnijejiv sulfat	Ostalo
Metionin	Natrijev fosfat	Kondicionirani medij gigantocelularnog tumora (GCT-CM)
Fenilalanin	Kalcijev nitrat	
Prolin		
Serin	Puferi	Glutation
Treonin	Natrijev hidrogenkarbonat	Biotin
Triptofan	HEPES	
Tirozin		
Valin		
Voda	Antibiotik	Energetski supstrati
Kvaliteta u skladu s propisanom za vodu za injekcije	Gentamicinsulfat	Glukoza
		Inozitol

POTREBNI MATERIJALI I OPREMA KOJI NISU PRILOŽENI

- Plastične sterilne epruvete za centrifugu i tikkive za kulturu
- CO_2 inkubator na 37 °C
- Stolna centrifuga
- Vrtložna mješalica
- Temeljna standardna otopina kolcemida 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$
- Otopina kalijevog klorida 0,075 mol/l
- Otopina za fiksaciju, metanol:octena kiselina (3:1)

OSIGURANJE KVALITETE

Vise čimbenika – uključujući izvor uzorka, uvjet uzgoja kulture i odabir reagensa – može utjecati na konačan rezultat. Korisnicima se preporučuje da ispitaju svaku novu proizvodnu seriju reagensa upotrebjavajući je paralelno s referentnim materijalom za koji je već utvrđeno da djeluje na odgovarajući način prije nego tu novu seriju počnu rutinski upotrebljavati. Performanse svake proizvodne serije medija CHANG Medium BMC ispitane su na kliničkim kulturama koštane srži u neovisnom laboratoriju za kliničku citogenetiku i usporedene su s kontrolnim medijem. Rezultati su navedeni na Potvrdu o analizi svake proizvodne serije.

PRIPREMA ZA UPOTREBU

Medij CHANG Medium BMC mora se odmrzavati u hladnjaku (2 – 8 °C) preko noći i zatim lagano promješati kako bi se osigurala homogenost. Aseptički prenjeti 10 ml medija u sterilne tikkvice za kulturu i uravnotežiti na 37 °C kako bi se mogao odmah upotrijebiti za kulturu koštane srži.

Napomena: uobičajeno je da se u mediju CHANG Medium BMC formiraju kristali kalcijeva karbonata. Nije zabilježeno da prisutnost tih kristala ima ikakvo stotno djelovanje na performanse proizvoda.

UPUTE ZA UPOTREBU

Priprema uzorka:
upotrijebiti 0,5 do 1,0 ml aspirata koštane srži u heparin natru. Litijev heparin, EDTA i citratni antikoagulans nisu podobni za citogenetička ispitivanja.

- Dobjiti li se više od 5 ml aspirata koštane srži, moguće je da je uzorak hemodilutiran. Centrifugirati uzorak kako bi se izolirala frakcija koštane srži.
- Zaprimali se uzorak u mediju za prijenos, centrifugirati uzorak i ukloniti medij za prijenos (supernatant). Inokulirati preostalom frakcijom aspirata.

Dodatale pojedinstvo o upotrebi ovih proizvoda svaki laboratorij treba potražiti u svojim laboratorijskim postupcima i protokolima koji su posebno razvijeni i optimirani za medicinski program upravo tog laboratorija.

Kultura koštane srži:

na svim posudama s kulturama navesti ime pacijenta, broj uzorka i vrstu kulture. Za svaki uzorak pripremiti tikkvu koja sadrži:

- 10,0 ml medija CHANG Medium BMC.
- Prije inokulacije uzorka uravnotežiti tikkvicu na 37 °C.
3. Inokulirati 0,5 ml (50 μl) uzorka (ili odgovarajući količinu ovisno o broju leukocita) u svaku tikkvicu koja sadrži 10,0 ml prethodno uravnoteženog medija CHANG Medium BMC. Dodati manju količinu uzorka ako je broj leukocita visok (> 30 000) ili veću količinu uzorka ako je broj leukocita nizak (< 5 000).
4. Inkubirati tikkvicu na 37 °C 1 – 2 dana.

Prikupljanje kultura:

1. Izdaviti kulture iz inkubatora i lagano promučkati kako bi se obnovila suspenzija stanica.
2. Prenjeti sadržaj tikkvice u epruvetu od 15 ml za centrifugu.
3. U svaku epruvetu dodati 100 μl temeljne standardne otopine kolcemida (10 $\mu\text{g}/\text{ml}$).
4. Začepiti epruvete i miješati prevrtanjem.
5. Inkubirati epruvete 20 minuta na 37 °C.
6. Nakon inkubacije centrifugirati epruvete 8 minuta na 1200 o/min (300 x g).
7. Pažljivo aspirirati supernatant iz svake epruvete.
8. Obnoviti suspenziju taloga stanica lagano miješajući ili lupkući dno epruvete kažirptom.
9. VRLO POLAKO dodavati 10 ml hipotonične otopine (0,075 mol/l kalijevog klorida) u svaku epruvetu dok su epruvete u vrtložnoj mješalici (koja je postavljena na najnižu postavku).
10. Ostaviti epruvete da miruju na sobnoj temperaturi 20 minuta (hipotonična obrada).
11. Centrifugirati epruvete 8 minuta na 1200 o/min (300 x g).
12. Aspirirati supernatant i ostaviti otprilike 1,0 ml hipotonične otopine iznad taloga stanica.

NAPOMENA: paziti na vlastnosti materijala koji se može protezati iz taloga stanica u supernatant nakon centrifuge. Možda će biti potrebno ručno ukloniti posljednji nekoliko ml supernatanta koristeći se Pasteurom pipetom (ne vakuumskom aspiracijom) da ne bi došlo do aspiracije čitavog taloga stanica u spremniku za otpad.

13. Obnoviti suspenziju taloga stanica kako je opisano u 8. koraku.
14. VRLO POLAKO dodavati 10 ml otopine za fiksaciju (metanol:octena kiselina [3:1]) u svaku epruvetu dok su epruvete u vrtložnoj mješalici (koja je postavljena na najnižu postavku).
15. Ostaviti epruvete da miruju na sobnoj temperaturi 20 minuta (prva fiksacija).
16. Ponoviti korake 11. – 13.
17. Dodati 5 ml fiksativa kako je opisano u 14. koraku.
18. Ostaviti epruvete da miruju na sobnoj temperaturi 10 minuta (druga fiksacija).

INDIKACIJE ZA UPOTREBU

20. Sada se fiksirane taloge stanica može odmah upotrijebiti za pripremu stakalaca u skladu sa standardnim protokolom laboratorija ili ih se može pohraniti u hladnjaku (2 – 8 °C) za upotrebu u budućnosti.

POHRANA I STABILNOST

Medij CHANG Medium BMC mora se čuvati zamrznut na temperaturu manj od -10 °C dok ga se ne bude trebalo upotrijebiti. Medij CHANG Medium BMC stabilan je do isteka roka valjanosti koji je naveden na oznaci boce kada ga se čuva na zamrznutom stanju. Nakon odmrzavanja sav neiskorišten proizvod može se raspodjeliti u alklike odgovarajuće veličine za rad i ponovno zamrznuti za kasniju upotrebu ili ga se može čvrsto začepiti i čuvati na temperaturu od 2 °C do 8 °C najviše 30 dana. Zaštititi od fluorescentnog svjetla.

MJERE OPREZA I UPOZORENJA

Predviđeno je da se ovim proizvodom koristi osoblje osposobljeno za postupke koji uključuju primjenu za koju je namijenjen ovaj proizvod.

Medij CHANG Medium BMC sadrži FBS i kondicionirani medij GCT-a i nije se mora rukovati primjenjujući univerzalne laboratorijske mjere opreza. Medij sadrži antibiotik (gentamicin) kako bi se smanjila mogućnost kontaminacije bakterijama, no u radu s medijem moraju se uvijek primjenjivati aseptičke metode. Ne upotrebljavati medij koji nije crvene boje.

Prikupljanje kultura:

1. Izdaviti kulture iz inkubatora i lagano promučkati kako bi se obnovila suspenzija stanica.
2. Prenjeti sadržaj tikkvice u epruvetu od 15 ml za centrifugu.
3. U svaku epruvetu dodati 100 μl temeljne standardne otopine kolcemida (10 $\mu\text{g}/\text{ml}$).
4. Začepiti epruvete i miješati prevrtanjem.
5. Inkubirati epruvete 20 minuta na 37 °C.
6. Nakon inkubacije centrifugirati epruvete 8 minuta na 1200 o/min (300 x g).
7. Pažljivo aspirirati supernatant iz svake epruvete.
8. Obnoviti suspenziju taloga stanica lagano miješajući ili lupkući dno epruvete kažirptom.
9. VRLO POLAKO dodavati 10 ml hipotonične otopine (0,075 mol/l kalijevog klorida) u svaku epruvetu dok su epruvete u vrtložnoj mješalici (koja je postavljena na najnižu postavku).
10. Ostaviti epruvete da miruju na sobnoj temperaturi 20 minuta (hipotonična obrada).
11. Centrifugirati epruvete 8 minuta na 1200 o/min (300 x g).
12. Aspirirati supernatant i ostaviti otprilike 1,0 ml hipotonične otopine iznad taloga stanica.

NAPOMENA: paziti na vlastnosti materijala koji se može protezati iz taloga stanica u supernatant nakon centrifuge. Možda će biti potrebno ručno ukloniti posljednji nekoliko ml supernatanta koristeći se Pasteurom pipetom (ne vakuumskom aspiracijom) da ne bi došlo do aspiracije čitavog taloga stanica u spremniku za otpad.

13. Obnoviti suspenziju taloga stanica kako je opisano u 8. koraku.
14. VRLO POLAKO dodavati 10 ml otopine za fiksaciju (metanol:octena kiselina [3:1]) u svaku epruvetu dok su epruvete u vrtložnoj mješalici (koja je postavljena na najnižu postavku).
15. Ostaviti epruvete da miruju na sobnoj temperaturi 20 minuta (prva fiksacija).
16. Ponoviti korake 11. – 13.
17. Dodati 5 ml fiksativa kako je opisano u 14. koraku.
18. Ostaviti epruvete da miruju na sobnoj temperaturi 10 minuta (druga fiksacija).

MALTI**INDIKAZIONI GHALL-UŽU**

CHANG Medium BMC huva mahsub ghall-užu fil-kultura primjera ta' Kolturi kliniči ta' Mudullun Uman ghall-karjotippar u testijet genetiči ohra ta' diversi mard ematologiku.

DESKRIZZJONI TAL-APPARAT

CHANG Medium BMC huva midjum lest ghall-užu li fih RPMI Medium 1640, b'PBS, bafer HEPEPS, L-glutamine, Giant Cell Tumor (GCT) Conditioned Medium u Gentamicin sulfate. CHANG Medium BMC gie optimizat sabiex jappogħa l-adejżon efficienċi taċ-ċelloli u t-tkkabbi taċ-ċelloli tal-mudullu ghall-analizi citogenetika. Mhx meħtieġa z-żieda ta' ebda komponenti qabel it-Tkkabbi tal-mudullu.

KOMPONENTI

Aciđi Amminiċi	Proteini, Ormoni u Fatturi ta' Tkabbir	Vitamini u mikroelementi
Arginine	Fetal bovine serum (FBS)	Folic acid
Asparagine		Nicotinamide
Aspartic Acid		Riboflavin
Cystine		Thiamine
Glutamine	Indikator tal-pH	Pantothenic acid
Glutamic Acid	Phenol Red	Cobalamin
Glycine		Pyridoxine
Histidine	Imluha u Joni	Aminobenzoic acid
Hydroxyproline	Sodium chloride	
Isoleucine	Choline chloride	Ohrjan
Leucine	Potassium chloride	Giant cell tumor
Lysine	Magnesium sulfate	conditioned medium (GCT-CM)
Methionine	Sodium phosphate	Glutathione
Phenylalanine	Calcium Nitrate	Biotin
Proline		
Serine	Bafers	
Threonine	Sodium bicarbonate	Substrati tal-Enzjeda
Tryptophan	HEPES	Glucose
Tyrosine		Inositol
Valine		Antibiotiku Gentamicin Sulfate
Ilma		
Kwaliteti tal-WFI		
(Ilma ghall-Injezzjoni)		

MATERJALI U TAGHMIR MEHTIEĞ IŽDA MUHUX IPPROVDUT

1. Tubi Sterili tal-Plastik taċ-Ċentrifugu u Flasks tal-Tkkabbi
2. Inkubator tal-CO₂ f'temperatura ta' 37°C
3. Ċentrifugu ta' fuq il-Bank
4. Vortex Mixer
5. Soluzjoni Ewlenja ta' Colcemid, 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$
6. Soluzjoni ta' Potassium Chloride, 0,075 M
7. Soluzjoni Fissat, Methanol:Acetic Acid (3:1)

ASSIGURAZZJONI TAL-KWALITÀ

Bosta fatturi inkluzi is-sors tal-kampjuni, il-kundizzjonijiet tat-Tkkabbi u l-ġażha tal-reagenta jistgħu jinfluwenzaw ir-riżultat miex sub. L-enti jingħata l-pari li jidher mu koll amont għid tar-reagenta b'mod parallel mal-materjal ta' referenza d'attivitàx iż-żera magħruha qabel ma jidher jinu b'mod regolari. Il-prestazzjoni ta' kull iott ta' CHANG Medium BMC għet-istess fuq Kolturi Kliniči tal-Mudullu f'Laboratorju ta' Citoġenetika Klinika indipendenti fi-qabilu ma' medium ta' kontroll. Ir-riżultati jiġu rapprtati fuq Ċertifikat ta' Analisi spċċiku.

PREPARAZZJONI GHALL-UŽU

CHANG Medium BMC għandu jiġi mħallul matil il-lejl fi frigg (2-8°C) imbagħad imħallat bil-mod sabiex tiġi żgurata l-omoġġenitā. B'mod assettu ddispensa 10 mL tal-midju għi flassterħ fuq koll tubu fil-waqf. Il-riżultati f'fotu fuq 1200 rpm (300 x g).

Nota: Kristalli ta' calcium carbonate ta' spiss jifform f'CHANG Medium BMC. Il-prezenza ta' dawn il-kristalli ma jidher jidher tikkawża effett detriali fuq il-prestazzjoni tal-prodott.

ISTRUZZJONI JIET DWAR L-UŽU

Preparazzjoni tal-Kampjun:

- Už 0,5 sa 1,0 mL ta' aspirat tal-mudullu miżjud b'sodium heparin. Lithium heparin, EDTA, jew citrate antiocoagulant mhixx adattati għal konsill id-dokumenti.
- Jekk iktar minn 5 mL ta' aspirat tal-mudullu jiġi mlilqugh, il-kampjun jista' jkun emodilvit (hemodilute). Dawwar il-kampjun "I'sfel biex tżidola l-parti tal-mudullu.
 - Jekk il-kampjun jista' iż-żidha fuq 5 mL ta' aspirat tal-mudullu jiġi mlilqugh, il-kampjun jista' jkun emodilvit (hemodilute). Dawwar il-kampjun "I'sfel biex tżidola l-parti tal-mudullu.

HAZNÀ U STABILITÀ

CHANG Medium BMC għandu jiġi mħażu iffrid f'temperatura ambjentali għal-

- 10 minuti (it-tieni fissassjoni).
19. Irrepeti l-punti 16-18 (it-tieliet fissassjoni).
20. F'dan il-punti, il-gerbubi taċ-ċelloli ffissati jistgħid luu kollha. CHANG Medium BMC huwa stabbi sal-data ta' skadenza li idher fuq il-kampjun jista' jkun emodilvit (hemodilute). Dawwar il-kampjun "I'sfel biex tżidola l-parti tal-mudullu.
- Għal dettalji addizzjoni dwar l-užu ta' dawn il-prodotti, kull laboratorju għandu jikkonsulta l-i-proceduri u il-protokoli tal-laboratorju tieghu stess li ġew zvilluppati u ottimizzati speċifikament ghall-programm mediku l-individuali tiegħek.
- IT-TKABBIR TAL-MUDULLUN:**
- Aghmel tikketta bl-isem tal-pazjenti, in-numru tal-kampjun, u t-tippi ta' kultura. Ghall-kampjun ipprepara fl-skali jekk fuq l-ġażu:
1. 10,0 mL CHANG Medium BMC.
 2. Ekkilwa l-flask għal-temperatura ta' 37°C qabel il-kampjun.
 3. Agħalli l-ġażu t-tħalli.
 4. Agħalli l-ġażu t-tħalli.
 5. Agħalli l-ġażu t-tħalli.
 6. Wara l-inokulazzjoni, iċċentrifuga t-tħalli għal-ġħadha.
 7. Biex-reqqa aspira s-supernatant minn koll tubu.
 8. Erġa' ssospendi l-gerbubi taċ-ċelloli b'il-mod, jew b'ebwel s-sabu.
 9. BIL-MOD HAFNA żid 10 mL ta' soluzjoni ipotonika (0,075 M Potassium Chloride) ill koll tubu filwaqt li ddawwar il-vortex (fuq l-inġas setting).
 10. Halli t-tħalli joqogħu f'temperatura ambjentali għal-ġħadha.
 11. Iċċentrifuga t-tħalli għal-ġħadha.
 12. Aspira s-supernatant u halli madwar 1,0 mL ta' soluzjoni ipotonika fuq il-gerbubi taċ-ċelloli.
 - NOTA: Oqqod attent għall-materjal fib-rivu li jidher jidher tikkawża effett detriali fuq il-prestazzjoni tal-prodott.
 13. Erġa' ssospendi l-gerbubi taċ-ċelloli kif deskrit fil-punt 8.
 14. BIL-MOD HAFNA żid 10 mL tal-fissattiv 3:1 Methanol:Acetic acid fil-koll tubu filwaqt li ddawwar il-vortex (fuq l-inġas setting).
 15. Halli t-tħalli joqogħu f'temperatura ambjentali għal-ġħadha.
 16. Irrepeti l-punti 11-13.
 17. Żid 5 mL tal-fissattiv bhal fil-punt 14.

INDIKACIJE ZA UPORABO

Medij CHANG Medium BMC je namenjen za uporabo v primarnih kliničnih kulturah humanega kostnega mozga za določanje kariotipa in druge genske preiskave različnih hematoloških motenj.

OPIS PRIPOMOČKA

Medij CHANG Medium BMC, ki je že pripravljen za uporabo in vsebuje RPMI Medium 1640, FBS, puffer HEPES, L-glutamin, Giant Cell Tumor (GCT) Conditioned Medium in gentamicinijev sulfat. Medij CHANG Medium BMC je optimiziran za podporo učinkovite pritridle in rasti celic kostnega mozga za citogenetsko analizo. Pred gojenjem kostnega mozga ni treba dodati nobenih komponent.

KOMPONENTE

Aminokisline	Beljakovine, hormoni in rastni faktorji	Vitamini in elementi v sledovih
Arginin	Folna kislina	Tiamin
Asparagin	Nikotinamid	Pantotsenska kislina
Asparaginska kislina	Riboflavin	Kobalamin
Cistin	Serum govejeja zarodka (FBS)	Piridoksin
Glutamin	Indikator vrednosti pH	Aminobenzojska kislina
Glutaminska kislina	Fenol rdeče	
Glicin	Soli inioni	
Histidin	Natrijev klorid	
Hidroksiprolin	Holinsklorid	
Izolevtolin	Kalijev klorid	Drugo
Levcin	Magnijejiv sulfat	Kondicioniran medij iz velikoceličnih tumorjev (GCT-CM)
Lizin	Natrijev fosfat	Glutalton
Metionin	Kalcijev nitrat	Biotin
Fitilanilanin		
Prolin		
Serin		
Treonin	Pufri	Energijski substrati
Triptofan	Natrijev bikarbonat	Glukozna inozitol
Tirozin	HEPES	
Valin		
Voda	Antibiotik Gentamicinijev sulfat	
Kakovost, ki ustreza vodi za injekcije		

POTREBNI MATERIALI IN PRIPOMOČKI, KI NISO PRIZENI

- Plastične, sterilne, centrifugirne epruvete in bučke za gojenje kultur
- CO₂-inkubatori s temperaturo 37 °C
- Namizna centrifuga
- Vrtični mešalnik
- Osnova raztopina kolcempida, 10 µg/ml
- Raztopina kalijevega klorida, 0,075 M
- Fiksacijska raztopina metanola in osetne kisline (razmerje 3 : 1)

ZAGOTAVLJANJE KAKOVOSTI

Nabojeni rezultat lahko vpliva več dejavnikov, vključno z virom vzorcev, pogojem gojenja in izbiro reagentov. Uporabnikom svetujemo, da vsako novo serijo reagenta pred začetkom rutinske uporabe preskusijo v primerjavi z referenčnim materialom, z katerega je znana ustrežna aktivnost. Delovanje vsake serije medija CHANG Medium BMC je testirano na kliničnih kulturah kostnega mozga in neodvisnim laboratoriju za klinično citogenetiko v primerjavi s kontrolnim medijem. Rezultati so navedeni na analiznem certifikatu za vsako serijo.

PRIPRAVA ZA UPORABO

Medij CHANG Medium BMC je treba čez noč oddaliti v hladilniku (2–8 °C) in nato predvidno premesati, da se zagotovi homogenost. Aseptično razdelite 10 ml medija v sterilne bučke za gojenje kultur in ga uravnotežite na 37 °C za takojšnjo uporabo s kulturami kostnega mozga.

Opomba: V mediju CHANG Medium BMC pogosto nastanejo kristali kalijevega karbonata, vendar prisotnost teh kristalov ni pokazala nobenih škodljivih učinkov na uporabnost izdelka.

NAVODILA ZA UPORABO

Priprava vzorcev:

Uporabite od 0,5 do 1,0 ml aspirata kostnega mozga z dodatkom natrjevega heparina. Litijev heparin, EDTA ali citratni antikoagulansi niso primerni za citogenetske študije.

- Če prejmete več kot 5 ml aspirata kostnega mozga, je vzrok lahko v hemodiluciji vzorca. V tem primeru vzorec centrifugirajte, da izolirate frakcijo kostnega mozga.
- Če vzorec prejmete v mediju za prenos, s centrifugiranjem odstranite medij za prenos (supernatant). Inokulirajte z uporabo preostale frakcije aspirata.

Dodatevne podrobnosti o uporabi teh izdelkov določajo notranji laboratorijski postopki in protokoli vsakega laboratorija, ki so bili posebej razviti in optimizirani za zadevni medicinski program.

Gojitev kostnega mozga:

Na vse posode za gojenje kultur zapišite ime bolnika, številko vzorca in tip kulture. Za vsak vzorec pripravite bučko, ki vsebuje:

- 10,0 ml medija CHANG Medium BMC.
- Pred inokulacijo vzorca bučko uravnotežite na 37 °C.
- V vsako bučko, ki vsebuje 10,0 ml predhodno uravnoteženega medija CHANG Medium BMC, inokulirajte po 0,5 ml (500 µl) vzorca oziroma ustrezeno kolичino glede na število belih krvnih celic (BKS). Če je število belih krvnih celic visoko (> 30.000), dodajte manj vzorca, in če je nizko (< 5.000), dodajte več vzorca.
4. Bučko inkubirajte 1–2 dni pri temperaturi 37 °C.

Pobiranje kultur:

1. Kulture vzemite iz inkubatorja in jih nežno sukajte, da ponovno suspendirate celice.
2. Vsebinske bučke prenesite v 15 ml centrifugirno epruveto.
3. V vsako epruveto dodajte 100 µl osnovne raztopine kolcempida (10 µg/ml).
4. Epruvete zaprite in premešajte vsebino z obracenjem.
5. Epruvete 20 minut inkubirajte pri temperaturi 37 °C.
6. Po inkubaciji epruvete 8 minut centrifugirajte pri 1200 vrt./min (300 x g).
7. Previdno aspirirajte supernatant iz vsake epruvete.
8. Celično usidlino ponovno suspendirajte tako, da jo narahljo premešate ali s kazalcem frcate po spodnjem delu epruvete.
9. ZELO POČASI dodajte 10 ml hipotonične raztopine (0,075 M kalijevega klorida) v vsako epruveto med mešanjem v vrtičnem mešalniku (pri najnižji nastavilosti).
10. Epruvete naj 20 minut počivajo pri sobni temperaturi (hipotonična obdelava).
11. Epruvete 8 minut centrifugirajte pri 1200 vrt./min (300 x g).
12. Aspirirajte supernatant, tako da nad celično usidlino ostane približno 1,0 ml hipotonične raztopine.
- OPOMBA: Pazite na vlaknasto snov, ki se po centrifugirjanju lahko širi iz celične usidlne v supernatant. Zadnjih nekaj ml supernatanta boste morda morali ročno odstraniti s Pasteurjevo pipeto (ne v vakuumsko aspiracijo), da preprečite aspiracijo celotne celične usidlne v posodo za odpadke.
13. Ponovno suspendirajte celično usidlino, kot je opisano v 8. koraku.
14. ZELO POČASI dodajte 10 ml fiksacijske raztopine metanola in osetne kisline (razmerje 3 : 1) v vsako epruveto med mešanjem v vrtičnem mešalniku (pri najnižji nastavilosti).
15. Epruvete naj 20 minut počivajo pri sobni temperaturi (provo fiksiranje).
16. Ponovite korake od 11 do 13.
17. Dodajte 5 ml fiksativa kot v 14. koraku.

18. Epruvete naj 10 minut počivajo pri sobni temperaturi (drugo fiksiranje).

19. Ponovite korake od 16 do 18 (tretje fiksiranje).

20. Na tej točki se lahko fiksirani celični peleti takoj uporabijo za pripravo preparatov skladno s standardnim protokolom laboratorija ali shranjuje v hladilnik (2–8 °C) za nadaljnjo uporabo.

SHRANJEVANJE IN STABILNOST

Medij CHANG Medium BMC je treba shranjevati zamrznjen pri temperaturi pod –10 °C, dokler ni pripravljen za uporabo. Če se medij CHANG Medium BMC shranjuje zamrznjen, je stabilen do datuma izteka roka uporabnosti, ki je naveden na nalepkni steklenice. Odstaljen izdelek, ki ga niste porabili, lahko razdelite na delovne alikvite in ponovno zamrznete za poznejšo uporabo ali pa dobro zaprete s pokrovčkom in do 30 dni hranite pri temperaturi 2–8 °C. Zaščitite pred fluorescenčno svetlobo.

PREDVIDNOSTNI UKREPI IN OPORIZILA

Ta pripomoček sme uporabljati samo osebje, usposobljeno za postopke, ki vključujejo indicirano uporabo, za katero je pripomoček zasnovan.

CHANG Medium BMC vsebuje kondicioniran medij (FBS in GCT) in z njim je treba ravnati ob upoštevanju univerzalnih laboratorijskih predvidnostnih ukrepov. Medij vsebuje antibiotik (gentamicin) za zmanjšanje tveganja bakterijske kontaminacije, vendar je treba pri razpolaganju medija vedno uporabljati aseptične tehnike. Ne uporabljajte nobenega medija, ki ni rdeče barve.