IrvineScientific

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.
Utsluitend voor *in vitro* diagnostisch gebruik.
Pro diagnostické použití *in vitro*.
Til *in vitro*-diagnostik.
In vitro -diagnostikkaan.
Lietošanai *in vitro* diagnostikā.
Pentru uz diagnostic *in vitro*.
För *in vitro*-diagnostik.
Do diagnostyki *in vitro*.
In vitro diagnostiliseks kasutamiseks.
In vitro diagnosztikai alkalmazáshoz.
Skirta *in vitro* diagnostikai.
In vitro diagnostik kullanım için.
Na diagnostické použitie *in vitro*.
За *in vitro* диагностична употреба.
Za uporabo u *in vitro* dijagnostici.
Ghal użu dijanjostiku *in vitro*.
Za diagnostično uporabo *in vitro*.

Glossary of Symbols*:

- REF — Catalog Number
- LOT — Lot Number
- STERILE A — Sterilized using aseptic processing techniques (filtration)
- Expiration: Year - Month - Day
- Caution, consult accompanying documents
- Consult instructions for use
- -10°C — Storage Temperature below -10°C
- 2 STERILIZE — Do not resterilize
- Do not use if package is damaged
- Manufacturer
- CE — CE Mark
- EC REP — Emergo Europe - Westervoortsedijk 60 6827 AT Arnhem The Netherlands

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

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

MATERIALS AND EQUIPMENT REQUIRED BUT NOT PROVIDED
1. Plastic Sterile Centrifuge Tubes and Culture Flasks
2. CO_2 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, Methanol: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 hemodilute. Spin the specimen down to isolate the bone marrow fraction.
- 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.

DEUTSCH

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.

INDIKATIONEN
Das CHANG Medium BMC ist für die Verwendung in der Primärkultivierung klinischer humaner 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 Riesenzellenmormedium (GCT) und Gentamicinsulfat. Das CHANG Medium BMC ist für eine effiziente Zellanhaftung und Wachstum von Knochenmarkzellen für die zytogenetische Analyse optimiert. Für die Kultivierung des Knochenmarks ist keine vorherige Zugabe zusätzlicher Stoffe erforderlich.

INHALTSSTOFFE
Aminosäure: Arginin, Asparagin, Asparaginsäure, Cystin, Glutamin, Glutaminsäure, Glycin, Histidin, Hydroxyprolin, Isoleucin, Leucin, Lysin, Methionin, Phenylalanin, Prolin, Serin, Threonin, Tryptophan, Tyrosin, Valin
Protein, Hormone und Wachstumsfaktoren: Fetales Kälberserum (FBS)
pH-Indikator: Phenolrot
Salze und Ionen: Natriumchlorid, Cholinchlorid, Kaliumchlorid, Magnesiumsulfat, Natriumphosphat, Calciumnitrat
Puffer: Natriumbicarbonat, HEPES
Antibiotikum: Gentamicinsulfat
Vitamine und Spurenelemente: Folsäure, Nikotinamid, Riboflavin, Thiamin, Pantothensäure, Cobalamin, Pyridoxin, Aminobenzoesäure
Andere: Riesenzellumor-konditioniertes Medium (GCT-CM), Glutathion, Biotin
Energiesubstrate: Glukose, Inositol
Wasser: Wasser für Injektionszwecke (WFI)

ERFORDERLICHE MATERIALIEN UND HILFSSTOFFE (NICHT IM LIEFERUMFANG)
1. Sterile Zentrifugenröhrchen und Kulturflaschen aus Kunststoff
2. CO_2-Inkubator bei 37 °C
3. Tischzentrifuge
4. Vortexmischer
5. Colcemid-Ansatzlösung, 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 Reagenzcharge 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 natriumheparinisiertes 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.

Knochmarkkultur:
Alle Kulturgefäße mit Patientennamen, Probennummer und Kulturtyp 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 äquilibrieren.
3. 0,5 ml (500 µl) Probe oder eine der Leukozytenzahl (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 im 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).
16. Schritte 11–13 wiederholen.
17. 5 ml Fixiermittel gemäß Schritt 14 hinzugeben.
18. Die Röhrchen 10 Minuten bei Raumtemperatur stehen lassen (zweite Fixierung).
19. Schritte 16–18 (dritte Fixierung) wiederholen.
20. An diesem Punkt können fixierte Zellpellets sofort für die Objektträgerpräparation gemäß dem Standardprotokoll des Labors verwendet oder zur späteren Verwendung im Kühlschrank (2–8 °C) aufbewahrt werden.

LAGERUNG UND STABILITÄT
Das CHANG Medium BMC sollte bis zur Verwendung unter -10 °C tiefgekühlt gelagert werden. Bei Tiefkühllagerung ist das CHANG Medium BMC bis zu dem auf dem Flaschenetikett angegebenen Verfallsdatum stabil. Nach dem Auftauen kann jedes unbenutzte Produkt in Arbeitsaliquote abgefüllt und zur späteren Verwendung wieder eingefroren oder fest verschlossen und bei 2 °C bis 8 °C bis zu 30 Tage gelagert werden. Keinem Fluoreszenzlicht aussetzen.

VORSICHTSMASSNAHMEN UND WARNHINWEISE
Das Produkt ist für den Gebrauch durch Personal vorgesehen, das in Verfahren geschult ist, die den für das Produkt vorgesehenen Anwendungsbereich umfassen.

Das CHANG Medium BMC enthält FBS- und GCT-konditioniertes Medium und muss unter Einhaltung der in Laboren universell geltenden Vorsichtsmaßnahmen gehandhabt werden. Das Medium enthält ein Antibiotikum (Gentamicin), um das Risiko einer bakteriellen Kontamination zu verringern. Bei der Abgabe des Mediums sollten jedoch immer aseptische Techniken angewendet werden. Keine Medien verwenden, die nicht rot sind.

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 cariotipo 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-glutammina, 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 citogenica. Non è necessario aggiungere alcun altro componente prima di avviare la coltura delle cellule di midollo osseo.

COMPONENTI
Aminoacidi: Arginina, Asparagina, Acido aspartico, Cistina, Glutammina, Acido glutammico, Glicina, Istidina, Idrossiprolina, Isoleucina, Leucina, Lisina, Metionina, Fenilalanina, Prolina, Serina, Treonina, Triptofano, Tirosina, Valina
Proteine, ormoni e fattori di crescita: Siero bovino fetale (FBS)
Indicatore di pH: Rosso fenolo
Sali e ioni: Cloruro di sodio, Cloruro di colina, Cloruro di potassio, Solfato di magnesio, Fosfato di sodio, Nitrato di calcio
Tamponi: Bicarbonato di sodio, HEPES
Antibiotico: Gentamicina solfato
Vitamine ed elementi in tracce: Acido folico, Nicotinamide, Riboflavina, Tiamina, Acido pantotenico, Cobalamina, Piridossina, Acido aminobenzoico
Altro: Terreno condizionato da tumore a cellule giganti (GCT-CM), Glutatione, Biotina
Substrati energetici: Glucosio, Inositolo
Acqua: Qualità WFI (acqua per iniezioni)

MATERIALI E STRUMENTI NECESSARI MA NON FORNITI
1. Provette di plastica sterili per centrifuga e fiasche per coltura
2. Incubatore a CO_2 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 eparina sodica. La litio eparina, 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 colturali 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 agitare delicatamente per risospendere 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 giri/min (300 x g).
7. Aspirare con attenzione il surnatante da ogni provetta.
8. Risospendere il pellet cellulare agitando delicatamente o picchiettando 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 giri/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 scarto.
13. Risospendere 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.
18. Lasciare le provette a temperatura ambiente per 10 minuti (secondo fissaggio).
19. Ripetere i punti da 16 a 18 (terzo fissaggio).
20. A questo punto, i pellet cellulari fissati possono essere usati immediatamente per preparare il vetrino secondo il protocollo standard del laboratorio oppure conservati in frigorifero a 2-8 °C per l'uso successivo.

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.

FRANÇAIS

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 hématologiques.

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: Arginine, Asparagine, Asparaginezuur, Cystine, Glutamine, Glutaminezuur, Glycine, Histidine, Hydroxyproline, Isoleucine, Leucine, Lysine, Méthionine, Phénylalanine, Proline, Serine, Treonine, Tryptophane, Tyrosine, Valine
Indicateur de pH: Rouge de phénol
Sels et ions: Chlorure de sodium, Chlorure de choline, Chlorure de potassium, Sulfate de magnésium, Phosphate de sodium, Nitrate de calcium
Tampons: Bicarbonate de sodium, HEPES
Antibiotique: Sulfate de gentamicine
Vitamines et oligo-éléments: Acide folique, Nicotinamide, Riboflavine, Thiamine, Pantothénate, Cobalamine, Pyridoxine, Acide aminobenzoïque
Autre: Milieu conditionné de tumeur à cellules géantes (TCG), Glutathione, Biotine
Substrats énergétiques: Glucose, Inositol
Eau: Qualité WFI
Protéines, hormones et facteurs de croissance: Sérum de veau fœtal (SVF)

MATÉRIAUX ET ÉQUIPEMENT NÉCESSAIRES MAIS NON FOURNIS
1. Tubes pour centrifugeuse stériles et fiacons de culture en plastique
2. Étuve à CO_2 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 fiacons 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'aspirer 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.

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, tampón 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 antes de cultivar la médula ósea.

COMPONENTES
Aminoácidos: Arginina, Asparagina, Ácido aspártico, Cistina, Glutamina, Ácido glutámico, Glicina, Histidina, Hidroxiprolina, Isoleucina, Leucina, Lisina, Metionina, Fenilalanina, Prolina, Serina, Treonina, Triptófano, Tirosina, Valina
Proteínas, hormonas y factores de crecimiento: Suero bovino fetal (FBS)
Indicador del pH: Rojo de fenol
Sales e iones: Cloruro sódico, Cloruro de colina, Cloruro de potasio, Sulfato de magnesio, Fosfato de sodio, Azotato de calcio
Soluto tampon: Bicarbonato de sodio, HEPES
Antibiótico: Sulfato de gentamicina
Vitaminas y oligoelementos: Ácido fólico, Nicotinamida, Riboflavina, Tiamina, Ácido pantoténico, Cobalamina, Piridoxina, Ácido aminobenzoico
Otros: Medio acondicionado con tumor de célula gigantes (GCT-CM), Glutatión, Biotina
Substratos energéticos: Glucosa, Inositol
Agua: Calidad de agua para inyectables

MATERIAL Y EQUIPO NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS
1. Tubos de centrífuga estériles de plástico y frascos de cultivo
2. Incubadora de CO_2 a 37 °C
3. Centrífuga de mesa
4. Agitador vórtex
5. Solución stock de Colcemid, 10 µg/ml
6. Solución de cloruro de potasio, 0,075 M
7. Solución de fixativ, metanol:acid acetic (3:1)

ASIGURAREA CALITĂȚII
Mai mulți factori, printre care se numără sursa de specimene, condițiile de cultivare și selecția reactivilor, pot influența rezultatul obținut. Înainte de adoptarea pentru utilizarea de rutină, utilizatorii sunt sfătuiți să ruleze fiecare lot de reactiv în paralel cu materialul de referință despre care se cunoaște că acționează adecvat. 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 Int-ur laborator de citogenetică medicală independent. Rezultatele sunt raportate Int-ur 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 ușor pentru asigurarea omogenității. Transferați aseptic 10 ml de mediu în vase de cultură sterile și echilibrați la 37°C pentru utilizare imediată pentru culturile de măduvă osoasă.

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

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 o los anticoagulantes de citrato no resultan adecuados para estudios citogenéticos.
- Si se reciben más de 5

EESTI KEEL

NÄIDUSTUS KASUTAMISEKS

CHANG Medium BMC on mõeldud kasutamiseks primaarsetes kliinilises inimese luuüdi kultuurides kaitsütlüpiimse ja muude geneetiliste, erinevate hematoloogiliste häirete testimisega.

SEADME KIRJELDUS

CHANG Medium BMC on kasutusvalmis sööde, mis koosneb RPMI Medium 1640 FBS-ist ja sisaldab HEPES-puhvrit, L-glutamiini, Giant Cell Tumor (GCT) Conditioned Medium ja gentamitsiinsulfaati. CHANG Medium BMC on optimeeritud toetama luuüdi rakkude efektiivset kinnitumist ja kasvu täiendoseelsetes eesmärgil. Enne luuüdi kultuurimist ei ole vaja lisada muid komponente.

OSAD

Aminohape	Valgud, hormoonid	Vitamiinid ja
Arginiin	ja kasvufaktorid	mikroelementid
Asparagiin	Veisekode päritolu	Foolhape
Asparaginhape	seerum (FBS)	Nikotiinamiid
Cystiin		Riboflaviin
Glutamiin	pH-indikaator	Tiamiin
Glutaminhape	Fenoolpunane	Pantoteenhape
Glütsiin		Kobalamiin
Histidiin	Soolad ja ioonid	Püridoksiin
Hidroksüprolüün	Naatriumkloriid	Aminobensoehape
Isoleucine	Kloinkloriid	
Leutsiin	Kaaliumkloriid	Muu
Lüsiin	Magneesiumsulfaat	Hiidrakuline
Metioniin	Naatriumfosfaat	kasvaja põhine
Fenüülalaniin	Kaltsiumnitraat	sööde (GCT-CM)
Proliin		Glutatioon
Seriin	Puhvrid	Biotiin
Treoniin	Naatriumves-|	
Trüptofaan		Energia
Türosiin	HEPES	substraadid
Valiin		Glükoos
	Antibiootikum	Inositool
	Gentamitsiinsulfaat	

Vesi
WFI kvaliteet

VAJALIKUD, KUID KOMPLEKTI MITTEKUULUVAD MATERJALID JA VAHENDID

1. Plastist steriilsed tsentrifuugikatsutid ja rakukultuuri pudelid
2. CO_2 inkubaator temperatuuril 37 °C
3. Laualasentrifuug
4. Vortex-mikser
5. Colcemid Stock Solution, 10 µg/ml
6. Potassium Chloride Solution, 0,075 M
7. Fixative Solution, Methanol:Acetic Acid (3 : 1)

KVALITEEDI TAGAMINE

Saavutatavat tulemust võivad mõjutada mitmed tegurid, sh provide päritolu, kultuurimistingimused ja reaktiivide valik. Kasutajatel soovitatakse igat uut reaktiivipartiid paralleelselt analüüsida teadaolevalt sobiva aktiivsusega võrdlusmaterjaliga, enne kui see võetakse rutiinsesse kasutusse. Iga CHANG Medium BMC partii jõudlust on testitud kliinilistel luuüdikultuuridel sõltumatus kliinilises tsütogeneetikalaboris ja võrreldud kontrollsöötmega. Tulemused on esitatud partiispetsiifilises analüüsisertifikaadis.

ETTEVALMISTUSED KASUTAMISEKS

CHANG Medium BMC tuleb enne kasutamist üleöö külmkapis (2–8 °C) ja seejärel homogeenuse tagamiseks õrnalt segada. Viige aseptilist tehnikat kasutades 10 ml söödet steriilsetesse kultuuripudelitesse ning taasrakaalustage temperatuuril 37 °C koheseks kasutamiseks luuüdi kultuuridega.

Märkus. Tootes CHANG Medium BMC tekivad sageli kaltsiumoksalaadi kristallid. Nende kristallide esinemine ei ole põhjustanud kahjulikku toimet toote jõudlusele.

KASUTUSJUHEND

Proovi ettevalmistamine
Kasutage 0,5 kuni 1,0 ml naatriumperinseeritud luuüdi aspiraati. Tsütogeneetiliisteks uuringuteks ei sobi liitumhepariin, EDTA ega tsitraatmõrgulandid.

- Üle 5 ml luuüdi aspiraadi puhul võib olla tegu hemodiluitsiooniga. Luuüdi fraktsiooni isoleerimiseks kasutage tsentrifuugi.
- Kui proov tuleb transportaines, siis tsentrifuugige seda ja eemaldage transportaine (supernatant). Inokuleerige allesjäänud aspiraadifraktsioon kasutades.

Lisateabe saamiseks nende toodete kasutamise kohta peavad laborid tutvuma oma protseduuridre ja protokollidega, mis on välja töötatud ja optimeeritud spetsiaalselt nende individuaalse meditsiiniprogrammi jaoks.

Luuüdi kultuur

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

1. 10,0 ml CHANG Medium BMC.
2. Enne proovi inokuleerimist tasakaalustage pudel temperatuurile 37 °C.
3. Inokuleerige 5,0 ml (500 µl) proovi või sobiv kogus olenevalt valgete vereliblede (WBC) arvust igasse rakupudelisse, mis sisaldab 10,0 ml eeltasakaalustatud 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.

Kultuuride kogumine

1. Eemaldage kultuurid inkubaatorist ja segage rakkude suspendeerimiseks õrnalt.
2. Viige rakupudeli sisu üle 15 ml tsentrifuugikatsutisse.
3. Lisage igasse katsutisse 100 µl toodet Colcemid (10 µg/ml).
4. Korkige katsutid ja segage ringikeeramise teel.
5. Inkubeerige katsuteid temperatuuril 37 °C 20 minutit.
6. Pärast inkubeerimist tsentrifuugige katsuteid 8 minutit 1200 p/min (300 × g).
7. Aspireerige igast katsutist ettevaatlikult supernatant.
8. Resuspendeerige rakupellet õrnalt segades või nipsake nimetissõrmega vastu katsuti põhja.
9. Lisage igasse katsutisse VÄGA AEGLASELT 10 ml hipotonöödilt lahust (0,075 M kaaliumkloriid), samal ajal Vortex-segades (väikeseimal kiirusel).
10. Laske katsutitel seista toatemperatuuril 20 minutit (hipotoonoline töötlus).
11. Tsentrifuugige katsuteid 8 minutit 1200 p/min (300 × g).
12. Aspireerige supernatant, jättes rakupelleti peale umbes 1,0 ml hipotoonilist lahust.
    MÄRKUS. Olge ettevaatlik fibrosse materjalga, mis võib pärast tsentrifuugimi ulatuda rakupelletist üles supernatandi sisse. Viimaseid paar ml supernatanti võib olla vajalik eemaldada käsitsi, kasutades Pasteuri pipetti (mitte vaakumpipettimise teel), et vältida kogu rakupelleti aspireerimist jäätmenõusse.
13. Resuspendeerige rakupellett, nagu on kirjeldatud sammus 8.
14. Lisage igasse katsutisse VÄGA AEGLASELT 10 ml metanool-äädikhappe kinnitit suhtega 1 : 1, samal ajal Vortex-segades (väikeseimal kiirusel).
15. Laske katsutitel seista toatemperatuuril 20 minutit (esimene kinnitamine).
16. Korkige katsutid ja segage ringikeeramise teel.
17. Lisage 5 ml kinnitit, nagu sammus 14.
18. Laske katsutitel seista toatemperatuuril 10 minutit (teine kinnitamine).
19. Korraka samme 16–18 (kolmas kinnitamine).
20. Nüüd võib kinnitatud 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 külmutatult temperatuuril –10 °C kuni kasutamiseni. CHANG Medium BMC on juhistekohaselt säilitamisel stabiilne pudeli etiketile märgitud kuupäevani. Pärast sulatamist võib kasutamata toote jagada tööalkvootidesse ja külmutada uuesti hilisemaks kasutamiseks või tihedalt korkida ja hoida temperatuuril 2–8 °C kuni 30 päeva. Kaitske fluorestentsvalguse eest.

ETTEVAATUSABINÕUD JA HOIATUSED

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

CHANG Medium BMC sisaldab FBS ja GCT põhist söötet ning seda tuleb käidelda tavapäraste laboratoorsete ettevaatusabinõudega. Sööde sisaldab antibiootikumi (gentamitsiini), et vähendada bakteriaalse saaste võimalust, kuid söötme jaotamisel tuleb alati rakendada aseptilist tehnikat. Ärge kasutage ühtki söödet, mis ei ole punast värvi.

FELHASZNÁLÁSI JAVALLATOK

A CHANG Medium BMC klinikai humán csontvelőtenyészetek előhívására és tenyésztésében való alkalmazásra szolgál, kariotípus meghatározásához és más genetikai vizsgálatokhoz különböző hematológiai rendellenességek esetén.

TERMÉKISMERTETÉS

A CHANG Medium BMC egy használatra kész médium, amely FBS-t, HEPES-puffert, L-glutamint, órásseljes tumor (giant cell tumor, GCT) kondicionált médiumot és gentamicin-szulfátot tartalmazó RPMI Medium 1640-ból áll. A CHANG Medium BMC médiumot úgy optimalizálták, hogy támogassa a csontvelősejtek hatékony sejtkapcsolódását és növekedését a citogenetikai elemzéshez. A csontvelő tenyésztése előtt semmilyen összetevő hozzáadása nem szükséges.

ÖSSZETEVŐK

Aminosav	Fehérjék,	Vitaminok és
Arginin	hormonok és	nyomelemek
Aszparagin	növekedési	Folsav
Aszpaszginsav	faktorok	Nikotinamid
Cisztin	Marha	Riboflavin
Glutamin	szarvasmarha	Tiamin
Glutaminsav	szérum (fetal	Pantoténsav
Glicin	bovine serum,	Kobalamin
Hisztidin	FBS)	Piridoxin
Hidroxiprolin		Aminobenzoesav
Izoleucin	pH-indikátor	
Leucin	Fenolvörös	Egyéb
Lizin		Órásseljes tumor
Metionin	Sók és ionok	kondicionált
Fenilalanin	Nátrium-klorid	médium (giant cell
Prolin	Kálium-klorid	tumor conditioned
Szerin	Kálium-klorid	medium, GCT-CM)
Treonin	Magnézium-szulfát	Glutation
Triptofán	Nátrium-foszfát	Biotin
Tirozin	Kalcium-nitrát	
Valin		Energiaszubszt-
	Pufferek	rátok
Víz	Nátrium-bikarbonát	Glükóz
Injekcióhoz való	HEPES	Inocitol
minőségű víz		
	Antibiotikum	
	Gentamicin-szulfát	

SZÜKSÉGES, DE NEM BIZTOSÍTOTT ANYAGOK ÉS FELSZERELÉS

1. Műanyag, steril centrifugacsövek és tenyésztőflaskák
2. CO_2-inkubátor 37 °C-on
3. Asztali centrifuga
4. Vortex keverő
5. Kolcemid törzsoldat, 10 µg/ml
6. Kálium-klorid oldat, 0,075 M
7. Fixálóoldat, metanol:ecetsav (3:1)

MINŐSÉGBIZTOSÍTÁS

A kapott eredményt számos tényező befolyásolhatja, beleértve a minták forrását, a tenyésztési körülményeket és a reagensek kiválasztását. Javasoljuk, hogy a felhasználók minden új reagenstételt ismert, megfelelő aktivitású referenciaanyaggal párhuzamosan futtassanak a rutinszerű használat előtt. A CHANG Medium BMC minden egyes tételét klinikai csontvelőtenyészeteken tesztelték egy kontrollmédiummal összehasonlítva, független klinikai citogenetikai laboratóriumban. Az eredményekről jelentés készül egy tételspecifikus analitikai bizonyaton.

ELŐKÉSZÍTÉS A FELHASZNÁLÁSRA

A CHANG Medium BMC médiumot egy éjszakán át hűtőszekrényben (2–8 °C) kell felolvasztani, majd óvatosan éssze kell keverni a homogenitás biztosítása érdekében. Aszeptikusan adagoljon 10 ml médiumot a steril tenyésztőflaskákba, és elkülönítsük 37 °C-ra a csontvelőtenyészetekhez történő azonnali felhasználáshoz.

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

MAGYAR

HASZNÁLATI UTASÍTÁS

Minta-előkészítés:
Használjon 0,5–1,0 ml nátrium-heparinizált csontvelő-aspirátumot. A lítium-heparin, az EDTA vagy a citrát-antikoagulánsok nem alkalmasak citogenetikai vizsgálatokhoz.

- Ha 5 ml-nél több csontvelő-aspirátumot kap, lehet, hogy a minta hemodiluált. Pórgesse le a mintát a csontvelőfrakció izolálásához.
- Ha a minta transzportmédiumban érkezik, pórgesse le a mintát és távolítsa el a transzportmédiumot (felülúszó). Végezze el az inokulációt a maradék aspirációs frakcióval.

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

Csontvelőtenyészet:

Feliratozza az összes tenyésztőedényt a beteg nevével, a mintaszámmal és a tenyészet típusával. Minden egyes mintához készítsen első egy flaskát, amely a következőket tartalmazza:

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

A tenyészetek összegyűjtése:

1. Vegye ki a tenyészeteket az inkubátorból, és óvatosan forgassa a sejtek újbóli felszuszpendálásához.
2. Tegye át a flaska tartalmát egy 15 ml-es centrifugacsőbe.
3. Mindegyik csőhöz adjon 100 µl kolcemid törzsoldatot (10 µg/ml).
4. Zárja le a csöveket, és keverje össze azokat a csövek fel-le fordításával.
5. Inkubálja a csöveket 37 °C-on 20 percig.
6. Az inkubálás után centrifugálja a csöveket 8 percig 1200 rpm-en (300 × g).
7. Óvatosan szívja le a felülúszót az egyes csövekből.
8. Szuszpendálja fel újra a sejtpelletet óvatosan összekeverve vagy mutatóujjal megpöccintve a cső alját.
9. NAGYON LASSAN adjon 10 ml hipotónás oldatot (0,075 M kálium-klorid) minden csőhöz (a legalacsonyabb értéken végzett) vortexelés közben.
10. Hagyja a csöveket szobahőmérsékleten 20 percig állni (hipotónás kezelés).
11. Centrifugálja a csöveket 8 percig 1200 rpm-en (300 × g).
12. Szívja le a felülúszót, körülbelül 1,0 ml hipotónás oldatot hagyva a sejtpelletben.
    MEGJEGYZÉS: Ügyeljen a szálas anyagra, amely a centrifugálás után a sejtpelletből a felülúszóba kerülhet. Lehet, hogy az utolsó néhány ml felülúszót kézzel kell eltávolítani egy Pasteur-pipettával (nem vákuumszívással) a teljes sejtpellet hulladéktartályba szívásának elkerülése érdekében.
13. Szuszpendálja fel újra a sejtpelletet a 8. lépésben leírtak szerint.
14. NAGYON LASSAN adjon 10 ml 3:1 arányú metanol:ecetsav fixálószert minden csőhöz (a legalacsonyabb értéken végzett) vortexelés közben.
15. Hagyja a csöveket szobahőmérsékleten 20 percig állni (első fixálás).
16. Ismételje meg a 11–13. lépést.
17. Adjon hozzá 5 ml fixálószert, ahogy a 14. lépésben.
18. Hagyja a csöveket szobahőmérsékleten 10 percig állni (második fixálás).
19. Ismételje meg a 16–18. lépést (harmadik fixálás).
20. Ekkor a frissít sejtpelleket azonnal felhasználhatók metszetkészítéshez a laboratórium standard protokollja szerint, vagy hűtőszekrényben (2 és 8 °C közötti) tárolhatók későbbi felhasználásra.

TÁROLÁS ÉS STABILITÁS

A CHANG Medium BMC médiumot fagyasztva, –10 °C alatt kell tárolni a felhasználásig. A CHANG Medium BMC stabil az üveg címkéjén feltüntetett lejárati időpontig, amennyiben fagyasztva tárolják. A felolvasztást követően a fel nem használt termék munkaalikvótokra osztható, és később használatra újra lefagyasztható, vagy szorosan lezárva 2 és 8 °C közötti hőmérsékleten, legfeljebb 30 napig tárolható. Védje a fluoreszcens fénytől.

ÖVINTÉZKEDÉSEK ÉS FIGYELMEZTETÉSEK

Ezt a terméket azon eljárásokban képzett személyzet alatti felhasználásra szánták, amelyek során a termék alkalmazása javallott.

A CHANG Medium BMC FBS-t és GCT-kondicionált médiumot tartalmaz, és az általános laboratóriumi óvintézkedések szerint kell kezelni. A médium antibiotikumot (gentamicin) tartalmaz a bakteriális szennyeződés valószínűségének csökkentése érdekében, de a médium adagolásakor mindig aszeptikus technikát kell alkalmazni. Ne használja a médiumot, ha nem piros színű.

LIETUVIŲ K.

NAUDOJIMO INDIKACIJA

„CHANG Medium BMC“ terpė yra skirta pirminėms kliinikinėms žmogaus kaulų čiulpų ląstelių kultūroms auginti atliekant kariotipavimo ir kitus genetinius hematologinių patologijų tyrimus.

ĮTAISO APRAŠYMAS

„CHANG Medium BMC“ yra paruošta naudoti terpė, kurios sudėtyje yra RPMI Medium 1640 su FBS, HEPES buferiniu tirpalu, L-glutamino, kondicionuotos terpės iš gigantinių ląstelių naviko (GCT) linijos ir gentamicino sulfato. „CHANG Medium BMC“ terpė yra optimizuota palaikyti veiksmingą kaulų čiulpų ląstelių prisitvirtinimą ir augimą kultivuojant citogenetinių tyrimų kultūras. Prieš kultivuojant kaulų čiulpų pasėlius, nereikia pridėti jokių kitų sudėtinių medžiagų.

SUDEDAMOSIOS DALYS

Aminorūgštis	Baltymai, hormonai	Vitaminai ir
Argininas	ir augimo faktoriai	mikroelementai
Asparaginas	Galvijo embrono	Folio rūgštis
Asparto rūgštis	kraujo serumas	Nikotinamidas
Cistinas	(FBS)	Riboflavinas
Glutaminas		Tiaminas
Glutamo rūgštis	pH indikatorius	Pantoteninė rūgštis
Glicinas	Fenolio raudonasis	Kobalaminas
Histidinas		Piridoksinas
Hidroksiprolinas	Druskos ir joniai	Aminobenzoinė
Izoleucinas	Natrio chloridas	rūgštis
Leucinas	Cholino chloridas	
Lizinas	Kalio chloridas	Kita
Metioninas	Magnio sulfatas	Kondicionuota terpė
Fenilalaninas	Natrio fosfatas	iš gigantinių ląstelių
Prolinas	Kalcio nitratas	naviko (GCT-CM)
Serinas		Inuitolis
Treoninas	Buferiai	Gliukozė
Triptofanas	Natrio bikarbonatas	Inozitolis
Tirozinas	HEPES	
Valinas		Energetiniai
	Antibiotikas	substratai
Vanduo	Gentamicino	Gliukozė
Injekcinio	sulfatas	Inozitolis
vandens kokybė		

REIKALINGOS, BET PAKUOTĖJE NEPATEIKTOS MEDŽIAGOS IR ĮRANGA

1. Sterilūs plastikiniai centrifuginiai mėgintuviliai ir kultivavimo flakonai
2. CO_2 inkubatorius, 37 °C
3. Stalinė centrifuga
4. Sūkurinė maišyklė
5. Kolcemido pradinis tirpalas, 10 µg/ml
6. Kalio chlorido tirpalas, 0,075 M
7. Fiksatyvo tirpalas, metanolis: acto rūgštis (3:1)

KOKYBĖS UŽTIKRINIMAS

Gautiems rezultatams įtakos gali turėti keletas veiksnių, įskaitant mėginių šaltinius, kultūrų auginimo sąlygas ir reagentų pasirinkimą. Rekomenduojama prieš pradedant kiekvienos naujos partijos reagentus naudoti reguliariai, juos pirmiausia išbandyti lyginant su tuo pat metu tiriamais pamatinės žinomo tinkamo aktyvumo medžiagos bandiniais. Kiekvienos partijos „CHANG Medium BMC“ terpių veikimas buvo išbandytas auginant klinikines kaulų čiulpų ląstelių kultūras nepriklausomoje klinikinių citogeneticių tyrimų laboratorijoje ir lyginant su kontroline terpe. Rezultatai pateikiami atskiroms partijoms parengtuose analizės sertifikatuose.

PARUOŠIMAS NAUDOTI

„CHANG Medium BMC“ terpę reikia dar naktį atitirpinti šaldytuve (2 °C–8 °C), po to atsargiai sumaišyti iki vienalytės konsistencijos. Laikydamiesi aseptikos reikalavimų, po 10 ml terpės supilstykite į sterilius kultivavimo flakonus ir, nusistovėjus iki 37 °C būsenos, tuoj pat naudokite kaulų čiulpų ląstelių kultūroms.

Pastaba. „CHANG Medium BMC“ terpėje dažnai susidaro kalcio karbonato kristalų. Nenustatyta, kad šių kristalų buvimas kaip nors pakenktų produkto funkcinėms savybėms.

TÜRKÇE

KULLANIM ENDİKASYONU

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

CİHAZ TANIMI

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

BİLEŞENLER

Amino Asit	Proteinler,	Vitaminler ve eser
Arginin	Hormonlar ve	elemanlar
Asparagin	Büyüme Faktörleri	Folik asit
Aspartik Asit	Fetal sığır serumu	Nikotinamid
Sistin	(FBS)	Riboflavin
Glutamin		Tiyamin
Glutamik Asit	pH Göstergesi	Pantotenik asit
Glisin	Fenol kırmızısı	Kobalamin
Histidin		Piridoksin
Hidroksiprolin	Tuzlar ve İyonlar	Aminobenzoik asit
Izoleucin	Sodyum klorür	
Lösin	Kolin klorür	Diğer
Lizin	Potasyum klorür	Dev hücreli tümör
Metiyonin	Magnezyum sülfat	koşullandırılmış
Fenilalanin	Sodyum fosfat	vasat (GCT-CM)
Prolin	Kalsiyum Nitrat	Glutatyon
Serin		Biyotin
Treonin	Tamponlar	
Triptofan	Sodyum bikarbonat	Enerji Substratları
Tirozin	HEPES	Glukoz
Valin		Inositol
	Antibiyotik	
Su	Gentamisin Sülfat	
Enjeksiyonluk		
Su Kalitesi		

GEREKLİ AMA SAĞLANMAYAN MATERYAL VE EKİPMAN

1. Plastik Steril Santrifüj Tüpleri ve Kültür Flaskları
2. 37 °C'de CO_2 İnkübatörü
3. Tezgah Santrifüjü
4. Vorteks 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 kullanıma sokmadan önce her yeni reaktif partisini bilinen uygun aktiviteye sahip referans materyalle birlikte çalışmaları önerilir. Her CHANG Medium BMC lotu bağımsız bir Klinik Sitogenetik Laboratuvarda bir kontrol vasatıyla karşılaştırılarak Klinik Kemik İliği Kültürlerinde performans testinden geçmiştir. Sonuçlar lota özel bir Analiz Sertifikasında bildirilir.

KULLANIM HAZIRLIĞI

CHANG Medium BMC buzdolabında (2°C - 8°C) gece boyunca çözülüdükten sonra homojenliği sağlamak için nazikçe karıştırılmalıdır. Steril kültür flasklarına aseptik olarak 10 mL vasat koyun ve kemik iliği kültürlerinde hemen kullanım için 37°C'ye dengeleyin.

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

NAUDOJIMO NURODYMAI

Mėginių ruošimas
Mėginius ruoškite iš 0,5–1,0 ml kaulų čiulpų aspirato, heparinizuoto natrio heparinu. Liičio heparinas, EDTA ar citratinės antikoagulantai citogenetiniams tyrimams netinka.

- Jei paima daugiau kaip 5 ml kaulų čiulpų aspirato, mėginys gali būti paveikstas hemodiluucijos. Mėginį centrifuguokite atskirdami kaulų čiulpų frakciją.
- Jei mėginys pristatomas transportavimo terpėje, mėginį centrifuguokite ir nusiurbkite transportinę terpę (supernatantą). Likusią aspirato frakciją naudokite kultūrai sėti.

Išsamesnių šių produktų naudojimo gairių kiekviena laboratorija turi ieškoti savo vidaus darbo tvarkos taisyklėse ir metodiniuose nurodymuose, specialiai parengtuose ir optimizuotuose pagal atskiros medicininės programos nuostatas.

Kaulų čiulpų ląstelių kultūra

Ant visų kultivavimo indų pažymėkite paciento pavardę, mėginio numerį ir kultūros tipą. Kiekvienam mėginiui paruoškite po flakoną, kuriame yra:

1. 10,0 ml „CHANG Medium BMC“ terpės.
2. Prieš užsėdami mėginio kultūrą, pasiekite, kad nusistovėtų 37 °C flakono turinio temperatūra.
3. Į kiekvieno flakono 10,0 ml pusiausvirosios būsenos „CHANG Medium BMC“ terpę pasėkite po 5,0 ml (500 µl) mėginio arba kitą atitinkamą kiekį, priklausomai nuo baltųjų kraujo kūnelių (WBC) skaičiaus. Jei leukocitų skaičius yra didelis (>30 000), įterpkite mažiau mėginio, o jei leukocitų skaičius yra žemas (<5000) – daugiau mėginio.
4. Inkubuokite flakoną 37 °C temperatūroje 1–2 dienas.

Kultūrų surinkimas

1. Išimkite kultūras iš inkubatoriaus ir atsargiai sukiodami resuspenduokite ląstelės.
2. Flakono turinį perpilkite į 15 ml talpos centrifuginį mėgintuvėlį.
3. Į kiekvieną mėgintuvėlį įlašinkite po 100 µl pradinio „Colcemid“ tirpalo (10 µg/ml).
4. Mėgintuvėlius uždenkite ir vartydami 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. Resuspenduokite rakopelletą, nagu on kirjeldatud sammus 8.
9. Atsargiai maišydami arba rodomuju pirštu patapšnodami mėgintuvėlio dugną, resuspenduokite ląstelių nuosėdas.
10. Purtydami sūkurinėje maišyklėje (lėčiausius režimu), į kiekvieną mėgintuvėlį LABAI LĖTAI įpilkite po 10 ml hipotoninio tirpalo (0,075 M kalio chlorido).
11. Palikite mėgintuvėlius 20 minučių pastovėti kambario temperatūroje (hipotoninis apdorojimas).
12. Mėgintuvėlius 8 minutes centrifuguokite esant 1200 apsukų per minutę (300 x g).
13. Nusiurbkite supernatantą virš nusėdusių ląstelių palikdami apie 1,0 ml hipotoninio tirpalo.
    PASTABA. Reikia būti atsargiems, nes po centrifugavimo į viršnuosėdinį skystį iš nusėdusių ląstelių gali būti nusitęsusių skaidulinių medžiagų. Paskutinius kelis supernatantus milimetrai gali tekti nusiurbti Pasteur pipete (mikrovakuumo siurbimo), kad į atliekų konteinerį nebūtų įsiurbta visa ląstelių nuosėdas.
14. Resuspenduokite ląstelės, kaip aprašyta 8 etape.
15. Purtydami sūkurinėje maišyklėje (lėčiausiu režimu), į kiekvieną mėgintuvėlį LABAI LĖTAI įpilkite po 10 ml santykio 3:1 parauoto metanolio ir acto rūgšties fiksatyvo mišinio.
16. Ponoviti korake 16. – 18. (treče fiksacija).
20. Sada se fiksirane taloge stanica može odmah upotrijebiti za primjenu stakalaca u skladu sa standardnim protokolom laboratorija ili se može pohraniti u hladnjaku (2 – 8 °C) za upotrebu u budućnosti.

POHRANA I STABILNOST

Medij CHANG Medium BMC treba čuvati zamrznut na temperaturi manjoj 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 se se čuva u zamrznutom stanju. Nakon odmrzavanja sav neiskorišten proizvod može se raspodijeliti u alikvote odgovarajuće veličine za rad i ponovno zamrznuti za kasniju upotrebu ili ga se može čvrsto zatepsti i čuvati na temperaturi 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 kuju je namijenjen ovaj proizvod.

Medij CHANG Medium BMC sadrži FBS i kondicionirani medij GCT-a i njime 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.

HRVATSKI

INDIKACIJE ZA UPOTREBU

Medij CHANG Medium BMC namijenjen je za uzgoj primarne kulture kliničkih kulura ljudske koštane srži u svrhu kariotipizacije i drugih genetičkih testiranja za različite hematološke poremećaje.

OPIS PROIZVODA

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

KOMPONENTE

Aminokiselina	Proteini, hormoni	Vitamini i elementi
Arginin	i čimbenici rasta	u tragovima
Asparagin	Fetalno goveđi	Folna kiselina
Aspartatna kiselina	serum (FBS)	Nikotinamid
Cistin		Riboflavin
Glutamin	pH indikator	Tijamin
Glutamatna kiselina	Fenol crveno	Pantotenska
Glicin		kiselina
Histidin	Soli i joni	Kobalamin
Hidroksiprolin	Natrijev klorid	Piridoksin
Izoleucin	Kalijev klorid	Piridoksin
Leucin	Kalijev klorid	Aminobenzoina
Lizin	Magnezijev sulfat	rigčlis
Metionin	Natrijev fosfat	
Fenilalanin	Kalcijev nitrat	Ostalo
Prolin		Kondicionirani medij
Serin	Pufери	gigantocelularnog
Treonin	Natrijev	tumorjev (GCT-CM)
Triptofan	hidrogenkarbonat	Glutation
Tirozin	HEPES	Biotin
Valin		
	Antibiotik	Energetski supstrati
Voda	Gentamicin sulfat	Glukoza
Injekcino		Inozitol
vodeni kakvoće		

POTREBNI MATERIJALI I OPREMA KOJI NISU PRILOŽENI

1. Plastične sterilne epruvete za centrifuzu i flaske za kulturu
2. CO_2 inkubator na 37 °C
3. Stolna centrifuga
4. Vrtložna miješalica
5. Temeljna standardna otopina kolcemida 10 µg/ml
6. Otopina kalijevog klorida 0,075 mol/l
7. Otopina za fiksaciju, metanol:octena kiselina (3:1)

OSIGURANJE KVALITETE

Više čimbenika – uključujući izvor uzoraka, uvjete uzgoja kulture i odabir reagensa – može utjecati na konačan rezultat. Korisnicima se preporučuje da ispitaju svaku novu proizvodnu seriju reagensa upotrebljavajući 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 klinično citogenetiko i usporedene su s kontrolnim medijem. Rezultati su navedeni na Potvrdi 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 promiješati kako bi se osigurala homogenost. Aseptički premjesti 10 ml medija u sterilne tikvice za kulturu i uravnotežiti na 37 °C kako bi se mogao odmah upotrijebiti za kulture koštane srži.

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

ЗАБЕЛЕЖКА: Бъдете внимателни за алкаснст материал, който може да се подава извън пепетата от кчетки и да достига до суперпатантта след центрофуриране. Последните няколко ml суперпатант може да е необходимо да се отстранят на ръка с помощта на пипета тип Пастьор (без използване на вакуумна аспирация), за да се избегне аспириране на цялата петета от клетки в контейнера за отпадък.

2. Ресуспендирайте пелетата от клетки, както е описано в стъпка 8.
14. МНОГО БАВНО добавете 10 ml фиксиращ разтвор 3:1 метанол:оцетна киселина към всяка епруветка, докато размесвате с виброс миксер (при най-ниската настройка).
15. Оставете епруветките на стайна температура за 20 минути (първо фиксиране).
16. Повторете стъпки 11 – 13.
17. Добавете 5 ml фиксиращ разтвор, както в стъпка 14.
18. Оставете епруветките на стайна температура за 10 минути (второ фиксиране).
19. Повторете стъпки 16 – 18 (трето фиксиране).
20. На тоза етап фиксираните пелети от клетки могат да се използват незабавно за приготвяне на слайд съгласно стандартния протокол на лабораторията или да се съхранят в хладилник (2 – 8° С) за бъдеща употреба.

СЪХРАНЕНИЕ И СТАБИЛНОСТ

CHANG Medium BMC трябва да се съхранява замразена при температура