



Chromosome Kit P

Návod k použití

Kompletní médium pro kultivaci buněk periferní krve



Dovoz a distribuce

INTIMEX s.r.o.

Jaroslava Vrchlického 541/6

735 06 Karviná – Nové město

Tel: +420 596 311 612

Kompletní médium určené pro kultivaci buněk získaných z periférní krve

Chromosome medium P je kompletní kultivační médium, jehož hlavními složkami jsou: RPMI-1640, L-glutamin, antibiotika, fetální bovinní sérum a fytohemaglutin (PHA).

Chromosome medium P se dodává zmrazené 1x tekuté, připravené k použití po rozmrazení podle níže uvedených pokynů, aby se minimalizovala manipulace ze strany koncového uživatele.

Chromosome media řady P jsou média pro kultivaci lymfocytů plné periférní krve odebraných v heparinu pro následnou analýzu chromozomů při diagnostických postupech *in vitro*.

Výrobky jsou určeny výhradně pro použití kvalifikovanými zdravotnickými pracovníky pro klinickou analýzu v klinických/lékařských laboratořích.

Samy o sobě diagnostické informace neposkytují. Protokol k použití však podrobně popisuje činnosti a metody, které provozovatel používá, aby byl produkt vhodný pro následnou analýzu karyotypu.

Materiál obsažený v soupravě

Chromosome Kit P - EKAMTP, 10x5 ml, skladování -18/-22°C, doba použitelnosti 12 měsíců od data výroby

Chromosome medium P - EK AMTB 100, 100ml, skladování -18/-22°C, doba použitelnosti 12 měsíců od data výroby

Chromosome medium P - EK AMB 500, 500 ml, skladování -18/-22°C, doba použitelnosti 12 měsíců od data výroby

Uchování a stabilita výrobku

Chromosome médium P se dodává zmrazené a mělo by se skladovat při teplotě -18/-22°C až do data použitelnosti uvedeného na etiketě výrobku. Před použitím produkt rozmrazte v chladničce při teplotě +2/+8°C a před použitím jemně promíchejte.



Pozor! Vyvarujte se rozmrazování při 37°C, mohlo by dojít ke tvorbě sraženin.

Po rozmrazení lze médium skladovat při teplotě +2/+8°C až 14 dní. Chromosome medium P lze rozmrazit a rozdělit na menší části. Tyto části lze znovu zmrazit a rozmrazit v době použití pouze jednou.



Pozor! Neopakujte více než dva cykly rozmrazování a zmrazování.

Doporučení pro použití

- Výrobek postupně rozmrazujte v chladničce při teplotě +2/+8°C
- Nepoužívejte, pokud je nádoba poškozená
- Skladujte mimo dosah světla, chraňte před světlem
- Chromosome medium P obsahuje fetální bovinní sérum (FBS), po rozmrazení mohou být viditelné zbytky flokulantu. Toto neovlivní účinnost výrobku
- Pro použití v diagnostice in vitro. Pouze pro profesionální použití



Pozor! Přečtěte si Bezpečnostní list (SDS) a řiďte se informacemi o zacházení s výrobkem. Obsluha musí používat vhodné osobní ochranné prostředky, jako jsou ochranné brýle, kombinéza a vhodné osobní ochranné prostředky, jako jsou brýle, ochranné pláště a rukavice.

Potřebné vybavení, které není k dispozici

- Sada mikropipet s variabilním objemem až 1000µl a jednorázovými špičkami
- Nádoba/zkumavka na buněčné kultury 15/25 cm²
- Odstředivka
- Termostat s přesnou regulací teploty (37°C ± 0.5°C).

Omezení

Každá šarže média Chromosome P je důkladně testována na primárních lymfocytech periferní krve, aby se zajistila optimální účinnost pro diagnostické použití *in vitro* pro tuto aplikaci.

Použití tohoto média nebylo ověřeno pro jiné účely, než pro které je určeno. Chromosome medium P je určeno pouze pro profesionální laboratorní použití, všechny výsledky by měly být interpretovány osobou s dokumentovanou cytogenetickou zkušeností nebo rovnocennou osobou s ohledem na další relevantní výsledky testů.

Přípravek je určen k použití s dalšími diagnostickými testy a terapeutický zásah by neměl být prováděn pouze na základě výsledku kultivace.

Společnost Euroclone není zodpovědná za klinickou diagnózu. Příspěvek společnosti Euroclone k těmto postupům spočívá v poskytnutí kultivačního média pro postup, pro který je určeno.

Médium je optimalizováno pro krátkodobou kultivaci lymfocytů z periferní krve, vzorky krve se odebírají do speciálních zkumavek s heparinem a ošetřují se v souladu s pokyny laboratoře nebo instituce, ve které pracujete.

Založení kultury a kultivace vzorku:

- Sterilně přidejte 500μl krve do kultivační zkumavky, nebo odeberte 5 ml Chromosome média P z lahvičky a vložte jej do baňky T-25 s 500μl vzorku krve.
- Zavřete uzávěr kultivační zkumavky nebo baňky.
- Promíchejte obsah zkumavky a inkubujte při $37\pm 2^{\circ}\text{C}$ tak, že položíte zkumavku do horizontální polohy (tzn. na plochou část). Přidání CO_2 není nutné.

Další informace (pouze informativní)

Navrhovaný protokol pro fixaci chromozomů a přípravu sklíček

1. Po 72 hodinové kultivaci přidejte 50 μ l Colcemidu (10 μ g/ml) a inkubujte při 37°C 90 minut (zhruba). Pokud chcete dosáhnout většího počtu prometafází, můžete dobu inkubace zkrátit o 15 minut
2. Po inkubaci, v případě potřeby, přeneste suspenzi do 15ml zkumavky a odstřed'ujte 3-4 minuty při 2000 otáčkách za minutu (vysoká rychlost odstřed'ování nepoškodí buňky)
3. Odsajte supernatant a dávejte pozor, abyste neztratili část buněčné pelety (doporučuje se ponechat ve zkumavce asi 0,5 ml suspenze)
4. Prudce promíchejte
5. Přidejte 5 ml hypotonického roztoku (destilovaná H₂O, 075M KCl) a dobře promíchejte
6. Inkubujte alespoň 7 minut při pokojové teplotě
7. Odstřed'ujte při 2.000 otáčkách za minutu po dobu 3-4 minut
8. Odsajte supernatant, jako v kroku 3
9. Prudce promíchejte
10. Přidejte 5ml roztoku destilovaná H₂O, 5% kyselina octová. Řádně promíchejte.
11. Okamžitě odstřed'te při 2.000 otáčkách za minutu po dobu 3-4 minut
12. Odsajte supernatant, jako v kroku 3
13. Prudce promíchejte
14. Přidejte 5ml fixačního roztoku (metanol nebo etanol:kyselina octová , 3:1) a řádně promíchejte
15. Opakujte kroky 11-14
16. Okamžitě odstřed'te při 2.000 otáčkách za minutu po dobu 3-4 minut
17. Opatrně odsajte skoro celý supernatant
18. Promíchejte pelety v několika kapkách čerstvého fixačního roztoku, abyste získali dostatečnou koncentraci buněk
19. Nakápněte malé množství buněčné suspenze na čisté a vlhké mikroskopické sklíčko
20. Nechte odpařit při konstantních podmínkách správné teploty a relativní vlhkosti