FUJIFILM IrvineScientific

CHANG Marrow
Bone Marrow Culture Medium
with Gentamicin

Catalog No. 91031 **100mL, 500mL**

For *in vitro* diagnostic use.
Zur *In-vitro*-Diagnostik.
Solo per uso diagnostico *in vitro*.
Para uso diagnóstico *in vitro*.
Pour diagnostics *in vitro*.
Para utilização em diagnóstico *in vitro*.
Για *in vitro* διαγνωστική χρήση.
Pro diagnostické použití *in vitro*.
Til *in vitro*-diagnostik.
In vitro -diagnostiikkaan.
Lietošanai *in vitro* diagnostikā.
Uitsluitend voor *in vitro* diagnostisch gebruik.
Do diagnostyki *in vitro*.
Pentru uz diagnostic *in vitro*.
För *in vitro*-diagnostik.
In vitro diagnostiliseks kasutamiseks.
In vitro diagnosztikai alkalmazáshoz.
Skirta *in vitro* diagnostikai.
İn vitro diagnostik kullanım için.
Na diagnostické použitie *in vitro*.
За *in vitro* диагностична употреба.
Za upotrebu u *in vitro* dijagnostici.
Għal 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 store below -10°C
2 STERILIZE	Do not resterilize
	Do not use if package is damaged
	Manufacturer
CE	CE Mark
EC REP	Emergo Europe - Prinsessegracht 20 2514 AP The Hague The Netherlands

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

REFERENCES

Tijo, JH, and Whang-Peng,J: Direct Preparation of Bone Marrow Cells. Human Chromosome Metholdology (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.

FUJIFILM Irvine Scientific, Inc.
2511 Daimler Street, Santa Ana, California 92705 USA
Telephone: 1 949 261 7800 • 1 800 437 5706 • Fax: 1 949 261 6522 • www.irvinesci.com

PN 40955 Rev. 6

INDICATION FOR USE
CHANG Marrow 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 Marrow is a ready-to-use medium consisting of IMDM, with FBS, HEPES buffer, L-glutamine, Giant Cell Tumor (GCT) Conditioned Medium, Recombinant Human GM-CSF and Gentamicin Sulfate. CHANG Marrow has been optimized to support efficient growth of bone marrow cells for cytogenetic analysis. No addition of any components prior to culturing bone marrow is required. CHANG Marrow contains Gentamicin Sulfate (50 mg/L). Additional antibiotics may be added if desired.

COMPONENTS

Amino Acids	Proteins, Hormones, and Growth Factors	Energy Substrates
Alanine	Fetal bovine serum (FBS)	Glucose
Arginine	hrGM-CSF	Pyruvate
Asparagine		Inositol
Aspartic Acid		
Cystine		Antibiotic
Glutamic Acid		Gentamicin Sulfate
Glutamine		
Glycine	Salts & Ions	Other
Histidine	Sodium chloride	Biotin
Isoleucine	Sodium selenite	Giant cell tumor conditioned medium (GCT-CM)
Leucine	Calcium chloride	
Lysine	Choline chloride	
Methionine	Potassium chloride	
Phenylalanine	Potassium nitrate	Vitamins and trace elements
Proline	Magnesium sulfate	Folic acid
Serine	Sodium phosphate	Nicotinamide
Threonine		Riboflavin
Tryptophan	Buffers	Thiamine
Tyrosine	Sodium bicarbonate	Pantothenic acid
Valine	HEPES	Cobalamin
		Pyridoxine
		Water
		WFI Quality

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 Marrow 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.

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)

PREPARATION FOR USE
Thaw overnight in the refrigerator (2 - 8°C), then gently mix to ensure homogeneity. Aseptically dispense 10 mL of medium into sterile culture flasks and equilibrate to 37°C for immediate use.

DIRECTIONS FOR USE
I. 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 at 1,200 rpm for 8 minutes to isolate the bone marrow fraction.
- If the specimen arrives in transport medium, spin the sample down at 1,200 rpm for 8 minutes and remove the transport medium (supernatant). Inoculate using the remaining spun-down fraction in the bottom of the tube.

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.

II. Bone Marrow Culture:
Label all culture vessels with patient name, specimen number, and culture type.

1. Before inoculation of specimen bring CHANG Marrow to ambient temperature.
2. Inoculate each culture with the appropriate amount of sample to achieve an optimal concentration of $1x10^6$ cells/mL or 10×10^6 cells per 10 mL culture.
3. Each individual laboratory should determine the number of cultures to set up depending on the clinical indication of the patient. Additional growth factors may be added if desired.
4. Incubate cultures at 35 - 39°C, 5–8% CO_2 atmosphere until ready for harvest.

Harvesting the Cultures:

1. Remove the culture ready for harvest from the incubator and gently swirl flask to re-suspend cells.
2. Transfer the contents of each flask to a 15 mL centrifuge tube.
3. Add 40 µL of stock Colcemid (10µg/mL) to each culture tube. Tightly cap tubes and mix gently by inverting.
4. Incubate tubes at 35-39°C, for 45 minutes.
5. After incubation, centrifuge tubes for 8 minutes at 1,000 rpm.
6. Carefully aspirate supernatant from each tube using a vacuum aspirator, with solvent trap. Be careful to not aspirate pellet.
7. Resuspend cell pellet by tapping bottom or side of each tube with finger.
8. Initiate a 20 minute timer.
9. Add 3 - 4 mL dropwise, of prewarmed (35 - 37°C) hypotonic solution (0.075M Potassium Chloride).
10. Tightly cap tube and mix gently by tapping bottom or side of the tube with finger.
11. Add 5 - 6 mL dropwise, of prewarmed (35 - 37°C) hypotonic solution. Tightly cap tube and invert tube.
12. Repeat Steps 9 - 11 for each tube.
13. Using a water bath, allow tubes to stand at 35 - 37°C. Invert tubes once at midpoint of 20 minute timer.
14. At the end of the 20 minute timer, remove tubes from water bath and add 1 mL of fresh 3:1 Carnoy's Fixative to each tube. Tightly cap and invert each tube. (This is the Pre-Fixative step)
15. Centrifuge tubes for 8 minutes at 1,000 rpm.
16. Aspirate supernatant from each tube, leaving about 1 mL above the cell pellet. Be careful to not aspirate pellet. 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.
17. Resuspend cell pellet, as described in Step 7.
18. Add 3 - 4 mL dropwise of fresh 3:1 Carnoy's Fixative.
19. Add remaining fixative up to 7 mL.
20. Repeat steps 16 - 19 for each tube.
21. Let stand for 10 minutes at room temperature. (This is the First fixative step).
22. Centrifuge tubes for 8 minutes at 1,000 rpm.
23. Aspirate supernatant leaving about 1 mL above pellet. Resuspend cell pellet.
24. Add fix, up to 7 mL. Centrifuge tubes for 8 minutes at 1,000 rpm. (Second fixative step).
25. Repeat steps 22 - 23. (Third fixative step).
26. At this point, fixed cells pellets can be used immediately for slide preparation according to the laboratory standard protocol or stored in the refrigerator (2 -8°C) or freezer for future use.

STORAGE AND STABILITY
CHANG Marrow should be stored frozen below –10°C until ready to use. CHANG Marrow 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 - 8°C for up to 30 days. Protect from fluorescent light.

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

EESTI KEEL

NÄIDUSTUS KASUTAMISEKS
CHANG Marrow on mõeldud kasutamiseks primaarsetes kliinilistes inimese luuüdi kultuurides karüotüüpimise ja muude geneetiliste, erinevate hematoloogiliste häirete testimise eesmärgil.

SEADME KIRJELDUS
CHANG Marrow on kasutusvalmis sööde, mis koosneb IMDM-ist koos FBS-iga ja sisaldab HEPES-puhvrit, L-glutamiini, Giant Cell Tumor (GCT) Conditioned Mediumi, Recombinant Human GM-CSF-i ja gentamitsiin-sulfaati. CHANG Marrow on optimeeritud toetama luuüdi rakkude efektiivset kasvu tsütogeneetilise analüüsi eesmärgil. Enne luuüdi kultuurimist ei ole vaja lisada muid komponente. CHANG Marrow sisaldab gentamitsiin-sulfaati (50 mg/l). Vajaduse korral võib lisada antibiootikume.

OSAD

Aminohapped	Valgud, hormoonid	Antibiootikum
Alaniin	ja kasvufaktorid	Gentamitsiinsulfaat
Arginiin	Veiseloote päritolu	
Asparagiin	seerum (FBS)	Muu
Asparagiinhape	hrGM-CSF	Biotiin
Tsüstiin		Hiidrakulise kasvaja
Glutamiinhape	Soolad ja ioonid	põhine sööde
Glutamiin	Naatriumkloriid	(GCT-CM)
Glütsiin	Naatriumseleniit	
Histidiin	Kaltsiumkloriid	Vitamiinid ja
Isoleutsiin	Koliinkloriid	mikroelemendid
Leutsiin	Kaaliumkloriid	Foolhape
Lüsiin	Kaaliumnitraat	Nikotiinamiid
Metioniin	Magneesiumsulfaat	Riboflaviin
Fenüülalaniin	Naatriumfosfaat	Tiamiin
Proliin		Pantoteenhape
Seriin	Puhvrid	Kobalamiin
Treoniin	Naatrium-	Püridoksiin
Trüptofaan	vesinikkarbonaat	
Türosiin	HEPES	Vesi
Valiin		WFI kvaliteet
	Energia substraadid	
	Glükoos	
	Püruvaat	
	Inositool	

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

VAJALIKUD, KUID KOMPLEKTI MITTEKUULUVAD MATERJALID JA VAHENDID
1. Plastist steriilsed tsentrifuugikatsutid ja rakukultuuri pudelid
2. CO_2 inkubaator temperatuuril 37 °C
3. Lauatsentrifuug
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)

ETTEVALMISTUSED KASUTAMISEKS
Jätke ööpäevaks külmikusse (2–8 °C) sulama ja seejärel segage tasakesi, kuni kõik on ühtlaselt segunenud. Jaotage 10 ml söödet aseptiliselt steriilsetesse kultuuri rakupudelitesse ja ekvilibreerige temperatuurini 37 °C, misjärel on sööde valmis koheseks kasutamiseks.

KASUTUSJUHEND
I. Proovi ettevalmistamine
Kasutage 0,5 kuni 1,0 ml naatriumhepariiniseeritud luuüdi aspiraati. Tsütogeneetilisteks uuringuteks ei sobi liitiumhepariin, EDTA ega tsitraatantikoagulandid.
- Kui võetakse üle 5 ml luuüdi aspiraati, võib proov olla hemodilueeritud. Luuüdi fraktsiooni isoleerimiseks tsentrifuugige 1200 p/min 8 minutit.
- Kui proov jõuab transpordisöötmesse, tsentrifuugige proovi 8 minutit 1200 p/min juures ja eemaldage transpordisööde (supernatant). Inokuleerige ülejäänud tsentrifuugitud fraktsioon katsuti põhjas.

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

II. Luuüdi kultuur
Sildistage kõik kultuurianumad patsiendi nime, proovi numbri ja kultuuri tüübiga.
1. Enne proovi okuleerimist tehke CHANG Marrow ümbritseva keskkonna temperatuurini.
2. Okuleerige igat kultuuri sobiva proovi kogusega, et saavutada optimaalne kontsentratsioon, milleks on 1 × 10^6 rakku/ml või 10 × 10^6 rakku 10 ml kultuuri kohta.
3. Iga laboratoorium peab kindlaks määrama kultiveeritavate kultuuride arvu olenevalt patsiendi kliinilisest näidustusest. Vajaduse korral võib lisada lisakasvufaktoreid.
4. Inkubeerige kultuure temperatuuril 35–39 °C, 5–8% CO_2 atmosfääris, kuni need on valmis kogumiseks.

Kultuuride kogumine
1. Eemaldage inkubaatorist kogumiseks valmis olev kultuur ja loksutage tasakesi rakupudelit, et rakke uuesti suspendeerida.
2. Viige iga rakupudeli sisu üle 15 ml tsentrifuugikatsutisse.
3. Lisage igasse katseklaasi 40 µl koltsemiidi põhilahust (10 µg/ml). Sulgege tihkelt katsutite korgid ja loksutage neid tasakesi korduvalt ümber pöörates.
4. Inkubeerige katsuteid 45 minutit temperatuuril 35–39 °C.
5. Pärast inkubeerimist tsentrifuugige katsuteid 8 minutit 1000 p/min juures.
6. Aspireerige supernatant ettevaatlikult igast katsutist lahusti püüduriga vaakumpipeti abil. Olge ettevaatlik, et mitte rakupelletit aspireerida.
7. Suspendeerige rakupelletit uuesti, koputades sõrmega iga katsuti põhjale või küljele.
8. Käivitage 20-minutiline taimer.
9. Lisage tilkhaaval 3–4 ml eelsoojendatud (35–37 °C) hüpotoonilist lahust (0,075 M kaaliumkloriid).
10. Sulgege tihkelt katsuti kork ja loksutage seda tasakesi, koputades sõrmega katsuti põhjale või küljele.
11. Lisage tilkhaaval 5-6 ml eelsoojendatud (35–37 °C) hüpotoonilist lahust. Sulgege tihkelt katsuti kork ja pöörake katsuti ümber.
12. Korrake samme 9–11 iga katsuti puhul.
13. Laske katsutitel 35–37 °C juures veevannis seista. Pöörake katsutid 20-minutilise perioodi keskel üks kord ümber.
14. 20-minutilise perioodi möödudes võtke katsutid veevannist välja ja lisage igasse katsutisse 1 ml värsket segu Carnoy's Fixative (metanooli ja äädikhappe segu suhtega 3 : 1). Sulgege tihkelt katsutite korgid ja pöörake need ümber. (Tegemist on eelkinnistava sammuga.)
15. Tsentrifuugige katsuteid 8 minutit 1000 p/min juures.
16. Aspireerige supernatant igast katsutist, jättes rakupelleti peale umbes 1 ml. Olge ettevaatlik, et mitte rakupelletit aspireerida. Olge ettevaatlik fibroosse materjaliga, mis võib pärast tsentrifuugimist ulatuda rakupelletist üles supernatandi sisse. Viimased paar ml supernatanti võib olla vajalik eemaldada käsitsi, kasutades Pasteuri pipetti (mitte vaakumpipettimise teel), et vältida kogu rakupelleti aspireerimist jäätmenõusse.
17. Suspendeerige rakupelletit uuesti, nagu on kirjeldatud sammus 7.
18. Lisage tilkhaaval 3-4 ml värsket segu Carnoy's Fixative (metanooli ja äädikhappe segu suhtega 3 : 1).
19. Lisage ülejäänud segu, kuni katsuti täitub tasemeni 7 ml.
20. Korrake samme 16–19 iga katsuti puhul.
21. Laske 10 minutit toatemperatuuril seista. (Tegemist on esimese kinnistava sammuga.)
22. Tsentrifuugige katsuteid 8 minutit 1000 p/min juures.
23. Aspireerige supernatant, jättes rakupelleti peale umbes 1 ml. Suspendeerige rakupelletit uuesti.
24. Lisage segu, kuni katsuti täitub tasemeni 7 ml. Tsentrifuugige katsuteid 8 minutit 1000 p/min juures. (Tegemist on teise kinnistava sammuga.)
25. Korrake samme 22-23. (Tegemist on kolmanda kinnistava sammuga.)
26. Pärast seda saab kinnistatud rakupelleteid kasutada kas kohe slaidi ettevalmistamiseks laboratoorse standardprotokolli kohaselt või säilitada neid edaspidiseks kasutamiseks külmikus (2–8 °C) või sügavkülmas.

SÄILITAMINE JA STABIILSUS
Söödet CHANG Marrow tuleb säilitada kuni kasutamiseni sügavkülmutatult temperatuuril alla –10 °C. CHANG Marrow on juhistekohasel säilitamisel stabiilne pudeli etiketile märgitud kuupäevani. Pärast ülessulatamist võib kasutamata toote jaotada kasutamiskõlblikeks alikvootideks ja taaskülmutada hilisemaks kasutamiseks või sulgeda tihkelt korgiga ning säilitada 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 Marrow sisaldab FBS ja GCT põhist söödet ning seda tuleb käidelda tavapärast laboratoorset ettevaatusabinõudega. Sööde sisaldab antibiootikumi (gentamitsiinsulfaati), et vähendada bakteriaalse saaste võimalust, kuid söötme jaotamisel tuleb alati rakendada aseptilist tehnikat. Ärge kasutage ühtki söödet, mis ei ole punast värvi.

MAGYAR

FELHASZNÁLÁSI JAVALLATOK
A CHANG Marrow klinikai humán csontvelőtenyészetek elsődleges tenyésztésében való alkalmazásra szolgál, kariotípus meghatározásához és más genetikai vizsgálatokhoz különböző hematológiai rendellenességek esetén.

TERMÉKISMERTETÉS
A CHANG Marrow egy azonnal használható médium, amely FBS-t, HEPES-puffert, L-glutamint, óriássejtes tumor (giant cell tumor, GCT) kondicionált médiumot, rekombináns humán GM-CSF-et és gentamicin-szulfátot tartalmazó IMDM-ből áll. A CHANG Marrow médiumot úgy optimalizálták, hogy támogassa a csontvelősejtek hatékony növekedését a citogenetikai elemzéshez. A csontvelő tenyésztése előtt semmilyen összetevő hozzáadása nem szükséges. A CHANG Marrow gentamicin-szulfátot (50 mg/l) tartalmaz. Szükség esetén további antibiotikumot is hozzáadhat.

ÖSSZETEVŐK

Aminosavak	Fehérjék, hormonok	Antibiotikum
Alanin	és növekedési	Gentamicin-szulfát
Arginin	faktorok	
Aszparagin	Magzati	Egyéb
Aszparaginsav	szarvasmarha	Biotin
Cisztin	szérum (fetal bovine	Óriássejtes tumor
Glutaminsav	serum, FBS)	kondicionált médium
Glutamin	hrGM-CSF	(giant cell tumor
Glicin		conditioned medium,
Hisztidin	Sók és ionok	GCT-CM)
Izoleucin	Nátrium-klorid	
Leucin	Nátrium-szelenit	Vitaminok
Lizin	Kalcium-klorid	és nyomelemek
Metionin	Kolin-klorid	Folsav
Fenilalanin	Kálium-klorid	Nikotinamid
Prolin	Kálium-nitrát	Riboflavin
Szerin	Magnézium-szulfát	Tiamin
Treonin	Nátrium-foszfát	Pantoténsav
Triptofán		Kobalamin
Tirozin	Pufferek	Piridoxin
Valin	Nátrium-bikarbonát	
	HEPES	Víz
		Injekcióhoz való
	Energiaszubsztrátok	minőségű víz
	Glükóz	
	Piruvát	
	Inozitol	

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 Marrow minden egyes tételét klinikai csontvelő-tenyészeteken tesztelték egy kontrollmédiummal összehasonlítva, független klinikai citogenetikai laboratóriumban. Az eredményekről jelentés készül egy tételspecifikus analitikai bizonylaton.

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)

ELŐKÉSZÍTÉS A FELHASZNÁLÁSRA
Egy éjszakán át hűtőszekrényben (2–8 °C) kell felolvasztani, majd óvatosan össze kell keverni a homogenitás biztosítása érdekében. Aszeptikusan adagoljon 10 ml médiumot a steril tenyésztőflaskákba, és ekvilibrálja 37 °C-ra az azonnali felhasználáshoz.

HASZNÁLATI UTASÍTÁS
I. 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, előfordulhat, hogy a minta hemodiluált. Pörgesse le a mintát 1200 rpm-en 8 percig a csontvelőfrakció izolálásához.
- Ha a minta transzportmédiumban érkezik, pörgesse le a mintát 1200 rpm-en 8 percig, és távolítsa el a transzportmédiumot (felülúszó). Végezze el az inokulációt a cső alján lévő maradék lepörgetett frakcióval.

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

II. Csontvelőtenyészet:
Feliratozza az összes tenyésztőedényt a beteg nevével, a mintaszámmal és a tenyészet típusával.
1. A minta inokulációja előtt érje el, hogy a CHANG Marrow környezeti hőmérsékletű legyen.
2. Inokuláljon minden tenyészetet a megfelelő mintamennyiséggel, hogy elérje az optimális 1 × 10^6 sejt/ml vagy 10 × 10^6 sejt/10 ml tenyészet-koncentrációt.
3. Minden egyes laboratóriumnak a beteg klinikai indikációjától függően kell meghatároznia a létrehozni kívánt tenyészetek számát. Szükség esetén további növekedési faktorokat is hozzáadhat.
4. Inkubálja a tenyészeteket 35–39 °C-on, 5–8%-os CO_2-atmoszférában, amíg készen nem állnak az összegyűjtésre.

A tenyészetek összegyűjtése:
1. Az összegyűjtésre készen álló tenyészetet vegye ki az inkubátorból, és a sejtek újbóli felszuszpendálásához óvatosan forgassa meg a flaskát.
2. Tegye át minden egyes flaska tartalmát egy-egy 15 ml-es centrifugacsőbe.
3. Mindegyik tenyészetet tartalmazó csőhöz adjon 40 µl kolcemid törzsoldatot (10 µg/ml). Szorosan zárja le a csöveket, és óvatosan keverje össze tartalmukat a csövek invertálásával.
4. Inkubálja a csöveket 35–39 °C-on 45 percig.
5. Az inkubálás után centrifugálja a csöveket 8 percig 1000 rpm-en.
6. Óvatosan szívja le a felülúszót az egyes csövekből vákuumszívással, oldószerfogó használatával. Ügyeljen arra, hogy ne szívja le a pelletet.
7. Az ujjával ütögesse meg az egyes csövek alját vagy oldalát a sejtpellet újbóli felszuszpendálásához.
8. Állítson be 20 perces időzítést.
9. Cseppenként adjon hozzá 3–4 ml előmelegített (35–37 °C) hipotóniás oldatot (0,075 M kálium-klorid).
10. Szorosan zárja le a csövet, és ujjával a cső alját vagy oldalát megütögetve óvatosan keverje össze a tartalmát.
11. Cseppenként adjon hozzá 5–6 ml előmelegített (35–37 °C) hipotóniás oldatot. Szorosan zárja le a csövet, majd fordítsa fel.
12. Ismételje meg a 9–11. lépést mindegyik csővel.
13. Vízfürdő használatával állítsa fel a csöveket 35–37 °C-on. A 20 perces időzítés felénél fordítsa fel egyszer a csöveket.
14. A 20 perces időszak végén vegye ki a csöveket a vízfürdőből, és adjon mindegyik csőhöz 1 ml friss, 3:1 Carnoy-féle fixálószert. Minden csövet szorosan zárjon le, és fordítsa fel őket. (Ez a fixálás előtti lépés.)
15. Centrifugálja a csöveket 8 percig 1000 rpm-en.
16. Szívja le a felülúszót mindegyik csőről, körülbelül 1 ml-t hagyva a sejtpellet felett. Ügyeljen arra, hogy ne szívja le a pelletet. 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.
17. Szuszpendálja fel újra a sejtpelletet a 7. lépésben leírtak szerint.
18. Cseppenként adjon hozzá 3–4 ml friss, 3:1 Carnoy-féle fixálószert.
19. Adja hozzá a maradék fixálót, 7 ml-ig.
20. Ismételje meg a 16–19. lépést mindegyik csővel.
21. Hagyja állni 10 percen át szobahőmérsékleten. (Ez az első fixálási lépés.)
22. Centrifugálja a csöveket 8 percig 1000 rpm-en.
23. Szívja le a felülúszót, körülbelül 1 ml-t hagyva a pellet felett. Szuszpendálja fel újra a sejtpelletet.
24. Adjon hozzá fixálót, 7 ml-ig. Centrifugálja a csöveket 8 percig 1000 rpm-en. (A fixálás második lépése.)
25. Ismételje meg a 22–23. lépést. (A fixálás harmadik lépése.)
26. Ekkor a fixált sejtpelleteket azonnal felhasználhatók metszetkészítéshez a laboratórium standard protokollja szerint, vagy hűtőszekrényben (2–8 °C között), illetve fagyasztóban tárolhatók későbbi felhasználásra.

TÁROLÁS ÉS STABILITÁS
A CHANG Marrow médiumot fagyasztva, –10 °C alatti hőmérsékleten kell tárolni a felhasználásig. A CHANG Marrow stabil az üveg címkéjén feltüntetett lejárati időpontig, amennyiben fagyasztva tárolják. A felolvasztást követően a fel nem használt termék munkaalikvotokra osztható, és későbbi használatra újra lefagyasztható, illetve szorosan lezárva 2–8 °C közötti hőmérsékleten legfeljebb 30 napig tárolható. Védje a fluoreszcens fénytől.

ÓVINTÉZKEDÉSEK ÉS FIGYELMEZTETÉSEK
Ezt a terméket azon eljárásokban képzett személyzet általi felhasználásra szánták, amelyek során a termék alkalmazása javallott.

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

LIETUVIŲ K.

NAUDOJIMO INDIKACIJA
„CHANG Marrow" terpė yra skirta pirminėms klinikinėms žmogaus kaulų čiulpų ląstelių kultūroms auginti atliekant kariotipavimo ir kitus genetinius hematologinių patologijų tyrimus.

ĮTAISO APRAŠYMAS
„CHANG Marrow" – tai paruošta naudoti terpė, kurios sudėtyje yra IMDM terpės su FBS, HEPES buferinio tirpalo, L-glutamino, kondicionuotos terpės iš gigantinių ląstelių naviko (GCT) linijos, rekombinantinio žmogaus GM-CSF ir gentamicino sulfato. „CHANG Marrow" terpė yra optimizuota palaikyti efektyvų kaulų čiulpų ląstelių augimą kultivuojant citogenetinei analizei skirtas kultūras. Prieš kultivuojant kaulų čiulpų pasėlius, nereikia pridėti jokių kitų sudėtinių medžiagų. „CHANG Marrow" terpės sudėtyje yra gentamicino sulfato (50 mg/l). Prireikus galima pridėti papildomų antibiotikų.

SUDEDAMOSIOS DALYS

Aminorūgštys	Baltymai, hormonai	Antibiotikas
Alaninas	ir augimo faktoriai	Gentamicino
Argininas	Jaučio embriono	sulfatas
Asparaginas	kraujo serumas	
Asparto rūgštis	(FBS)	Kita
Cistinas	hrGM-CSF	Biotinas
Glutamo rūgštis		Kondicionuota terpė
Glutaminas	Druskos ir jonai	iš gigantinių ląstelių
Glicinas	Natrio chloridas	naviko (GCT-CM)
Histidinas	Natrio selenitas	linijos
Izoleucinas	Kalcio chloridas	
Leucinas	Cholino chloridas	Vitaminai ir
Lizinas	Kalio chloridas	mikroelementai
Metioninas	Kalio nitratas	Folio rūgštis
Fenilalaninas	Magnio sulfatas	Nikotinamidas
Prolinas	Natrio fosfatas	Riboflavinas
Serinas		Tiaminas
Treoninas	Buferiai	Pantoteninė rūgštis
Triptofanas	Natrio bikarbonatas	Kobalaminas
Tirozinas	HEPES	Piridoksinas
Valinas		
	Energetiniai	Vanduo
	substratai	Injekcinio
	Gliukozė	vandens kokybė
	Piruvatas	
	Inozitolis	

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 Marrow" terpių veikimas buvo išbandytas auginant klinikines kaulų čiulpų ląstelių kultūras nepriklausomoje klinikinių citogenetinių tyrimų laboratorijoje ir lyginant su kontroline terpe. Rezultatai pateikiami atskiroms partijoms parengtuose analizės sertifikatuose.

REIKALINGOS, BET PAKUOTĖJE NEPATEIKTOS MEDŽIAGOS IR ĮRANGA
1. Sterilūs plastikiniai centrifuginiai mėgintuvėliai ir kultivavimo flakonai
2. CO_2 inkubatorius 37 °C temperatūroje
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)

PARUOŠIMAS NAUDOTI
Per naktį atitirpinkite šaldytuve (2–8 °C), po to atsargiai sumaišykite iki vienalytės konsistencijos. Laikydamiesi aseptikos reikalavimų, po 10 ml terpės supilstykite į sterilius pasėlio flakonus ir, nusistovėjus iki 37 °C būsenos, tuoj pat naudokite.

NAUDOJIMO NURODYMAI
I. Mėginių ruošimas
Mėginius ruoškite iš 0,5–1,0 ml kaulų čiulpų aspirato, heparinizuoto natrio heparinu. Ličio heparinas, EDTA ar citratiniai antikoaguliantai citogenetiniams tyrimams netinka.
- Jei paimta daugiau kaip 5 ml kaulų čiulpų aspirato, mėginys gali būti paveiktas hemodiliucijos. Mėginį 8 min. centrifuguokite esant 1200 aps./min atskirdami kaulų čiulpų frakciją.
- Jei mėginys pristatomas transportavimo terpėje, mėginį 8 min. centrifuguokite 1200 aps./min. greičiu ir nusiurbkite transportavimo terpę (viršnuosėdinį skystį). Pasėlį užsėkite po centrifugavimo mėgintuvėlio dugne nusėdusia frakcija.

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.

II. Kaulų čiulpų ląstelių kultūra
Ant visų kultivavimo indų pažymėkite paciento pavardę, mėginio numerį ir kultūros tipą.
1. Prieš mėginio inokuliavimą sušildykite „CHANG Marrow" iki aplinkos temperatūros.
2. Kiekvieną pasėlį užsėkite atitinkamu mėginio kiekiu, kad pasiektumėte optimalią 1 x 10^6 ląstelių/ml arba 10 x 10^6 ląstelių 10-yje ml pasėlio koncentraciją.
3. Kiekviena laboratorija turi nustatyti, kokį skaičių pasėlių paruošti, tai priklauso nuo paciento klinikinės indikacijos. Prireikus galima pridėti papildomų augimo faktorių.
4. Inkubuokite pasėlius 35–39 °C temperatūroje, 5–8 % CO_2 aplinkoje, kol bus galima paimti.

Kultūrų surinkimas
1. Išimkite paimti paruoštą pasėlį iš inkubatoriaus ir švelniai pamaišykite flakoną, kad resuspenduotumėte ląsteles.
2. Kiekvieno flakono turinį perpilkite į 15 ml talpos centrifuginį mėgintuvėlį.
3. Į kiekvieną pasėlio mėgintuvėlį įlašinkite po 40 µl pradinio kolcemido tirpalo (10 µg/ml). Mėgintuvėlius sandariai uždarykite dangteliais ir vartydami švelniai sumaišykite turinį.
4. Mėgintuvėlius inkubuokite 45 minutes 35–39 °C temperatūroje.
5. Po inkubacijos mėgintuvėlius 8 minutes centrifuguokite 1000 apsisukimų per minutę greičiu.
6. Atsargiai iš kiekvieno mėgintuvėlio įsiurbkite viršnuosėdinį skystį, naudodami vakuuminį įsiurbimo įtaisą su tirpiklio gaudykle. Būkite atsargūs ir neįsiurbkite ląstelių nuosėdų.
7. Resuspenduokite ląstelių nuosėdas, pirštu baksnodami kiekvieno mėgintuvėlio dugną arba šoną.
8. Įjunkite 20 minučių laikmatį.
9. Įlašinkite 3–4 ml pašildyto (35–37 °C) hipotoninio tirpalo (0,075 M kalio chlorido).
10. Sandariai dangteliu uždarykite mėgintuvėlį ir švelniai sumaišykite pirštu baksnodami mėgintuvėlio dugną arba šoną.
11. Įlašinkite 5–6 ml pašildyto (35–37 °C) hipotoninio tirpalo. Sandariai uždarykite mėgintuvėlį dangteliu ir jį apverskite.
12. Kiekvienam mėgintuvėliui pakartokite 9–11 veiksmus.
13. Palikite mėgintuvėlius vandens vonelėje 35–37 °C temperatūroje. Vieną kartą apverskite mėgintuvėlius praėjus pusei 20 minučių laikotarpio.
14. Pasibaigus 20 minučių laikotarpiui, išimkite mėgintuvėlius iš vandens vonelės ir į kiekvieną mėgintuvėlį įlašinkite 1 ml šviežio Karnojaus fiksacinio tirpalo santykiu 3:1. Kiekvieną mėgintuvėlį sandariai uždarykite dangteliu ir apverskite (tai yra veiksmas prieš fiksavimą).
15. Mėgintuvėlius 8 minutes centrifuguokite 1000 aps./min. greičiu.
16. Iš kiekvieno mėgintuvėlio įsiurbkite viršnuosėdinį skystį, palikdami maždaug 1 ml virš ląstelių nuosėdų. Būkite atsargūs ir neįsiurbkite ląstelių nuosėdų. Reikia būti atsargiems, nes po centrifugavimo į viršnuosėdinį skystį iš nuosėdų gali būti nusitęsusių skaidulinių medžiagų. Paskutinius kelis supernatanto mililitrus gali tekti nusiurbti Pastero pipete (nenaudojant vakuuminio siurbimo), kad į atliekų konteinerį nebūtų įsiurbta visa ląstelių nuosėdų masė.
17. Ląstelių nuosėdas resuspenduokite, kaip aprašyta 7 veiksme.
18. Įlašinkite 3–4 ml šviežio Karnojaus fiksacinio tirpalo santykiu 3:1.
19. Pridėkite likusį fiksacinį tirpalą (ne daugiau kaip 7 ml).
20. Kiekvienam mėgintuvėliui pakartokite 16–19 veiksmus.
21. Palikite 10 minučių kambario temperatūroje (tai yra pirmas fiksavimo veiksmas).
22. Mėgintuvėlius 8 minutes centrifuguokite 1000 aps./min. greičiu.
23. Nusiurbkite viršnuosėdinį skystį, palikdami apie 1 ml virš ląstelių nuosėdų. Resuspenduokite ląstelių nuosėdas.
24. Pridėkite fiksacinį tirpalą (ne daugiau kaip 7 ml). Mėgintuvėlius 8 minutes centrifuguokite 1000 aps./min. greičiu (antras fiksavimo veiksmas).
25. Pakartokite 22–23 veiksmus (trečias fiksavimo veiksmas).
26. Šitaip užfiksuotas ląstelių nuosėdas galima naudoti tuoj pat tepinėlių preparatams ruošti laboratorijoje nustatyta standartine tvarka arba galima laikyti šaldytuve (2–8 °C) ar šaldiklyje vėlesniems tyrimams.

LAIKYMAS IR STABILUMAS
Iki naudojimo „CHANG Marrow" terpę reikia laikyti užšaldytą žemesnėje kaip –10 °C temperatūroje. Laikant užšaldytą, „CHANG Marrow" terpė išlieka stabili iki tinkamumo datos, pažymėtos butelio etiketėje. Atitirpinus, nesunaudotą gaminio likutį galima išpilstyti darbinėmis dalimis ir vėl užšaldyti vėlesniam naudojimui arba sandariai uždengus laikyti 2–8 °C temperatūroje iki 30 dienų. Saugoti nuo fluorescencinių spindulių.

ATSARGUMO PRIEMONĖS IR ĮSPĖJIMAI
Ši priemonė yra skirta naudoti darbuotojams, išmokytiems atlikti procedūras, susijusias su priemonės taikymu pagal numatytą paskirtį.

„CHANG Marrow" terpės sudėtyje yra FBS ir GCT kondicionuotos terpės, todėl su ja dirbant reikia imtis įprastinių laboratorinės praktikos atsargumo priemonių. Terpės sudėtyje yra antibiotiko (gentamicino sulfato), skirto bakterinio užkrėtimo pavojui sumažinti, bet išpilstant terpę visuomet būtina laikytis metodinių aseptikos reikalavimų. Negalima naudoti jokios terpės, jei ji nėra raudonos spalvos.

TÜRKÇE

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

CİHAZ TANIMI
CHANG Marrow, FSS, HEPES tamponu, L-glutamin, Dev Hücreli Tümör (GCT) Koşullandırılmış Vasat, Rekombinant İnsan Granülosit Makrofaj Koloni Stimüle Edici Faktör (GM-CSF) ve Gentamisin Sülfatlı IMDM'den oluşan, kullanıma hazır bir vasattır. CHANG Marrow sitogenetik analiz için kemik iliği hücrelerinin etkin üremesini destekleme üzere optimize edilmiştir. Kemik iliği kültürünün yapılmasından önce herhangi bir bileşen eklenmesi gerekmez. CHANG Marrow, Gentamisin Sülfat (50 mg/L) içerir. İstenirse ek antibiyotikler eklenebilir.

BİLEŞENLER

Amino Asitler	Proteinler, Hormonlar	Antibiyotik
Alanin	ve Büyüme Faktörleri	Gentamisin Sülfat
Arjinin	Fetal sığır	
Asparajin	serumu (FSS)	Diğer
Aspartik Asit	hrGM-CSF	Biyotin
Sistin		Dev hücreli tümör
Glutamik Asit	Tuzlar ve İyonlar	koşullandırılmış
Glutamin	Sodyum klorür	vasat (GCT-CM)
Glisin	Sodyum selenit	
Histidin	Kalsiyum klorür	Vitaminler ve eser
İzolösin	Kolin klorür	elementler
Lösin	Potasyum klorür	Folik asit
Lizin	Potasyum nitrat	Nikotinamid
Metiyonin	Magnezyum sülfat	Riboflavin
Fenilalanin	Sodyum fosfat	Tiyamin
Prolin		Pantotenik asit
Serin	Tamponlar	Kobalamin
Treonin	Sodyum bikarbonat	Piridoksin
Triptofan	HEPES	
Tirozin		Su
Valin	Enerji Substratları	Enjeksiyonluk
	Glukoz	Su Kalitesi
	Piruvat	
	İnositol	

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 Marrow lotu bağımsız bir Klinik Sitogenetik Laboratuvarda bir kontrol vasatıyla karşılaştırılarak Klinik Kemik İliği Kültürlerinde performans testinden geçmiştir. Sonuçlar lota özel bir Analiz Sertifikasında bildirilir.

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)

KULLANIM HAZIRLIĞI
Bir buzdolabında (2 - 8°C) gece boyunca çözün ve sonra homojenliği sağlamak üzere yavaşça karıştırın. Steril kültür flasklarına aseptik olarak 10 mL vasat koyun ve hemen kullanım için 37°C'ye dengeleyin.

KULLANMA TALİMATI
I. Örnek Hazırlama:
0,5 - 1,0 mL sodyum heparinize kemik iliği aspiratı kullanın. Lityum heparin, EDTA veya sitrat antikoagülanları sitogenetik çalışmalar için uygun değildir.
- 5 mL üzerinde kemik iliği aspiratı alınırsa örnekte hemodilüsyon olabilir. Kemik iliği fraksiyonunu izole etmek için numuneyi 8 dakika boyunca 1200 devir/dk hızında santrifüjleyin.
- Numune eğer transfer vasatında gelirse örneği 1200 devir/dk hızında 8 dakika santrifüjleyip transfer vasatını (süpernatan) alın. Tüpün altında kalan santrifüje edilmiş fraksiyonu kullanarak inokülasyon yapın.

Bu ürünlerin kullanımı hakkında ek ayrıntılar açısından her laboratuvar kendi ayrı tıbbi programınız için özel olarak geliştirilmiş ve optimize edilmiş, kendi laboratuvar işlemleri ve protokollerine başvurmalıdır.

II. Kemik İliği Kültürü:
Tüm kültür kaplarını hasta adı, numune numarası ve kültür tipiyle etiketleyin.
1. Numune inokülasyonundan önce CHANG Marrow ürününü ortam sıcaklığına getirin.
2. Her kültüre 1x10^6 hücre/mL veya 10 mL kültür başına 10x10^6 hücre şeklinde optimum bir konsantrasyon elde etmek üzere uygun miktarda örnek inokülasyonu yapın.
3. Her ayrı laboratuvar hastanın klinik endikasyonuna göre kurulacak kültür sayısını belirlemelidir. İstenirse ek büyüme faktörleri eklenebilir.
4. Toplamaya hazır oluncaya kadar kültürleri 35°C - 39°C'de %5 - %8 CO_2 atmosferi altında inkübe edin.

Kültürlerden Toplama:
1. Toplamaya hazır kültürü inkübatörden çıkarın ve hücrelerin tekrar süspansiyonu için flaskı yavaşça çevirin.
2. Her flaskın içeriğini bir 15 mL santrifüj tüpüne aktarın.
3. Her kültür tüpüne 40 µL stok Colcemid (10 µg/mL) ekleyin. Tüplerin kapağını sıkıca kapatın ve ters düz ederek yavaşça karıştırın.
4. Tüpleri 35°C - 39°C'de 45 dakika inkübe edin.
5. İnkübasyondan sonra tüpleri 8 dakika boyunca 1000 devir/dk hızında santrifüjleyin.
6. Her tüpten süpernatanı solvent tuzaklı bir vakumlu aspiratör kullanarak dikkatle aspire edin. Pelleti aspire etmemeye dikkat edin.
7. Hücre pelletini her tüpün altına ve yan tarafına parmağınızla vurarak tekrar süspansiyon haline getirin.
8. 20 dakikalık bir zamanlayıcı başlatın.
9. 3 - 4 mL önceden ısıtılmış (35 - 37°C) hipotonik solüsyon (0,075 M Potasyum Klorür) ekleyin.
10. Tüpün kapağını sıkıca kapatın ve tüpün altına ve yan tarafına parmağınızla vurarak yavaşça karıştırın.
11. 5 - 6 mL önceden ısıtılmış (35 - 37°C) hipotonik solüsyonu damla damla ekleyin. Kapağını sıkıca kapatıp tüpü ters düz edin.
12. Her tüp için 9 - 11. adımları tekrarlayın.
13. Bir su banyosu kullanarak tüpleri 35 - 37°C'de dik tutun. 20 dakikalık zamanlayıcının orta noktasında tüpleri bir kez ters düz edin.
14. 20 dakika zamanlayıcı bittiğinde tüpleri su banyosundan çıkarın ve her tüpe 1 mL taze 3:1 Carnoy's Fixative ekleyin. Kapağını sıkıca kapatıp her tüpü ters düz edin. (Bu Prefiksatif adımıdır)
15. Tüpleri 8 dakika boyunca 1000 devir/dk hızında santrifüjleyin.
16. Her tüpten süpernatanı aspire edip hücre pelletinin üzerinde yaklaşık 1 mL bırakın. Pelleti aspire etmemeye dikkat edin. Santrifüjlemeden sonra hücre pelletinden yukarıya süpernatan içine uzanabilecek fibröz materyal açısından dikkatli olun. En son birkaç mL süpernatanın tüm hücre pelletinin atık kabına aspirasyonundan kaçınmak üzere bir Pasteur pipetiyle (vakum aspirasyonu kullanmadan) alınması gerekebilir.
17. Hücre pelletini 7. Adımda tanımlandığı gibi tekrar süspansiyon haline getirin.
18. 3 - 4 mL taze 3:1 Carnoy's Fixative ürününü damla damla ekleyin.
19. Kalan fiksatifi 7 mL toplam hacme kadar ekleyin.
20. Her tüp için 16 - 19. adımları tekrarlayın.
21. Oda sıcaklığında 10 dakika bırakın. (Bu Birinci fiksatif adımıdır).
22. Tüpleri 8 dakika boyunca 1000 devir/dk hızında santrifüjleyin.
23. Süpernatanı aspire edip pellet üzerinde yaklaşık 1 mL bırakın. Pelleti tekrar süspansiyon haline getirin.
24. 7 mL toplam hacme kadar fiksatif ekleyin. Tüpleri 8 dakika boyunca 1000 devir/dk hızında santrifüjleyin. (İkinci fiksatif adımı).
25. 22 - 23. adımları tekrarlayın. (Üçüncü fiksatif adımı).
26. Bu noktada sabit hücre pelletleri laboratuvarın standart protokolüne göre lam hazırlama için hemen kullanılabilir veya gelecekte kullanım için buzdolabında (2°C - 8°C) veya dondurucuda saklanabilir.

SAKLAMA VE STABİLİTE
CHANG Marrow kullanıma hazır olana kadar –10°C'nin altında dondurulmuş şekilde saklanmalıdır. CHANG Marrow dondurulmuş olarak muhafaza edildiğinde şişe etiketinde gösterilen son kullanma tarihine kadar stabildir. Çözdükten sonra kullanılmamış herhangi bir ürün çalışma alikotlarına aktarılıp daha sonra kullanılmak üzere tekrar dondurulabilir veya kapağı sıkıca kapatılıp 2 - 8°C'de 30 güne kadar saklanabilir. Floresan ışıktan koruyun.

ÖNLEMLER VE UYARILAR
Bu cihazın, cihaz kullanımının amaçlanmış olduğu belirtilen uygulamanın dahil olduğu işlemler konusunda eğitimli personelce kullanılması amaçlanmıştır.

CHANG Marrow, FSS ve dev hücreli tümör koşullandırılmış vasat içerir ve evrensel laboratuvar önlemlere göre kullanılmalıdır. Vasat, bakteriyel kontaminasyon potansiyelini azaltmak için bir antibiyotik (gentamisin sülfat) içerir ama vasatı verirken daima aseptik teknikler kullanılmalıdır. Kırmızı renkte olmayan herhangi bir vasatı kullanmayın.

SLOVENČINA

INDIKÁCIA NA POUŽITIE
CHANG Marrow je učené na použitie pri primárnej kultivácii klinických kultúr ľudskej kostnej drene na karyotypovanie a iné genetické testy na hematologické poruchy.

POPIS ZARIADENIA
CHANG Marrow je médium určené na priame použitie obsahujúce IMDM, s FBS, pufrom HEPES, L-glutamínom, médiom upraveným veľkobunkovým karcinómom (GCT), rekombinantným ľudským GM-CSF a gentamicín-sulfátom. CHANG Marrow je optimalizované na podporu účinného rastu buniek kostnej drene na cytogenetickú analýzu. Pred kultiváciou kostnej drene sa nevyžaduje pridanie žiadnych komponentov. CHANG Marrow obsahuje gentamicínsulfát (50 mg/l). Ak chcete, možno pridať ďalšie antibiotiká.

ZLOŽKY

Aminokyseliny	Bielkoviny, hormóny	Antibiotikum
alanín	a rastové faktory	gentamicínsulfát
arginín	fetálne bovinné	
asparagín	sérum (FBS)	Iné
kyselina	hrGM-CSF	biotín
asparágová		médium upravené
cystín	Soli a ióny	veľkobunkovým
kyselina glutámová	chlorid sodný	karcinómom
glutamín	seleničitan sodný	(GCT-CM)
glycín	chlorid vápenatý	
histidín	cholín vápenatý	Vitamíny
izoleucín	chlorid draselný	a stopové prvky
leucín	dusičnan draselný	kyselina listová
lyzín	síran horečnatý	nikotínamid
metionín	fosfát sodný	riboflavín
fenylalanín		tiamín
prolín	Pufre	kyselina
serín	hydrogénuhličitan	pantoténová
treonín	sodný	kobalamín
tryptofán	HEPES	pyridoxín
tyrozín		
valín	Energetické	Voda
	substráty	kvalita vody
	glukóza	na injekciu
	pyruvát	
	inositol	

KONTROLA KVALITY
Viaceré faktory, vrátane zdroja vzoriek, podmienok kultivácie a výberu reagencií, 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. Každá šarža CHANG Marrow mala vyskúšaný výkon na klinických kultúrach ľudskej drene v nezávislom laboratóriu pre klinickú cytogenetiku porovnaním s kontrolným médiom. Výsledky sa zaznamenávajú na certifikát analýzy pre špecifickú šaržu.

VYŽADOVANÉ, NO NEDODÁVANÉ MATERIÁLY A VYBAVENIE
1. Plastové sterilné skúmavky na odstreďovanie a fľaštičky na kultúru
2. Inkubátor CO_2 pri teplote 37 °C
3. Laboratórna odstredivka
4. Vírivý mixér
5. Kmeňový roztok Colcemid, 10 µg/ml
6. Roztok chloridu draselného, 0,075 M
7. Fixačný roztok, metanol : kyselina octová (3:1)

PRÍPRAVA NA POUŽITIE
Rozmrazte cez noc v chladničke (2 °C – 8 °C), potom zľahka premiešajte, aby sa zaistila homogénnosť. Asepticky nadávkujte 10 ml média do sterilných fľaštičiek na kultúru a ustáľte na teplotu 37 °C na okamžité použitie.

NÁVOD NA POUŽITIE
I. Príprava vzorky:
Použite 0,5 až 1,0 ml aspirátu kostnej drene ošetreného heparínom sodným. Lítium heparín, EDTA alebo citrátové antikoagulanciá sú nevhodné na cytogenetické štúdie.
- Ak dostanete viac než 5 ml aspirátu kostnej drene, vzorka môže byť zriedená krvou. Vzorku odstreďujte pri 1 200 otáčok za minútu 8 minút, aby sa izolovala frakcia kostnej drene.
- Ak vzorka príde v prenosnom médiu, odstreďte ju pri 1 200 otáčok za minútu 8 minút a odstráňte prenosné médium (supernatant). Začočkujte s použitím zvyšnej odstredenej frakcie na spodku skúmavky.

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

II. Kultivácia kostnej drene:
Všetky nádoby s kultúrami označte menom pacienta, číslom vzorky a typom kultúry.
1. Pred naočkovaním vzorky CHANG Marrow vytemperujte na okolitú teplotu.
2. Každú kultúru naočkujte primeraným množstvom vzorky, aby sa dosiahla optimálna koncentrácia 1 x 10^6 buniek/ml alebo 10 x 10^6 buniek na 10 ml kultúry.
3. Každé jednotlivé laboratórium si má určiť počet kultúr na stanovenie podľa klinickej indikácie pacienta. Ak chcete, možno pridať ďalšie rastové faktory.
4. Kultúry inkubujte pri teplote 35 °C – 39 °C, v atmosfére 5 – 8 % CO_2, kým nie sú pripravené na zber.

Zber kultúr:
1. Kultúry pripravené na zber vyberte z inkubátora a jemne zavrite fľaštičku, aby sa bunky resuspendovali.
2. Obsah každej fľaštičky preneste do 15 ml skúmavky na odstreďovanie.
3. Do každej skúmavky na kultiváciu pridajte 40 µl kmeňového Colcemidu (10 µg/ml). Na skúmavky natesno nasaďte vrchnáky a premiešajte prevrátením.
4. Skúmavky inkubujte pri teplote 35 °C – 39 °C 45 minút.
5. Po inkubácii skúmavky odstreďujte 8 minút pri 1 000 otáčok za minútu.
6. Z každej skúmavky pozorne aspirujte supernatant pomocou vákuového aspirátora s fľašou na zachytávanie rozpúšťadla. Dajte pozor, aby ste neodsali pelety.
7. Bunkovú peletu resuspendujte poklepaním prstom na dno alebo bok každej skúmavky.
8. Nastavte časovač na 20 minút.
9. Po kvapkách pridajte 3 – 4 ml zahriateho (35 °C – 37 °C) hypotonického roztoku (0.075 M chloridu draselného).
10. Na skúmavky natesno nasaďte vrchnáky a zľahka premiešajte poklepaním prstom na dno alebo bok skúmavky.
11. Po kvapkách pridajte 5 – 6 ml zahriateho (35 °C – 37 °C) hypotonického roztoku. Na skúmavku natesno nasaďte vrchnák a prevráťte ju.
12. Kroky 9 – 11 zopakujte pre každú skúmavku.
13. Použite vodný kúpeľ a skúmavky nechajte postáť pri teplote 35 °C – 37 °C. Uprostred 20-minútového časovania skúmavku raz prevráťte.
14. Po konci 20-minútového časovania vyberte skúmavky z vodného kúpeľa a do každej skúmavky pridajte 1 ml čerstvého fixačného roztoku Carnoy 3:1. Natesno nasaďte vrchnák a každú skúmavku prevráťte. (Toto je krok pred fixáciou.)
15. Skúmavky odstreďujte 8 minút pri 1 000 otáčok za minútu.
16. Z každej skúmavky aspirujte supernatant a ponechajte asi 1 ml nad bunkovou peletou. Dajte pozor, aby ste neodsali pelety. 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 vákuového odsávania), aby sa do odpadovej nádoby neaspirovala celá bunková peleta.
17. Bunkovú peletu resuspendujte tak, ako je popísané v kroku 7.
18. Po kvapkách pridajte 3 – 4 ml čerstvého fixačného roztoku Carnoy 3:1.
19. Pridajte zvyšný fixačný roztok do 7 ml.
20. Kroky 16 – 19 zopakujte pre každú skúmavku.
21. Nechajte postáť 10 minút pri izbovej teplote. (Toto je prvý fixačný krok.)
22. Skúmavky odstreďujte 8 minút pri 1 000 otáčok za minútu.
23. Aspirujte supernatant, pričom ponechajte asi 1,0 ml nad peletou. Resuspendujte bunkovú peletu.
24. Pridajte fixačný roztok do 7 ml. Skúmavky odstreďujte 8 minút pri 1 000 otáčok za minútu. (Druhý fixačný krok.)
25. Zopakujte kroky 22 – 23. (Tretí fixačný krok.)
26. V tomto bode možno zafixované bunkové pelety okamžite použiť na prípravu sklíčok podľa štandardného protokolu laboratória alebo uchovať v chladničke (2 °C – 8 °C) alebo mrazničke na budúce použitie.

UCHOVÁVANIE A STABILITA
CHANG Marrow sa má uchovávať pri teplote pod –10°C, až kým nebude pripravené na použitie. CHANG Marrow bude stabilné až do dátumu exspirácie vytlačeného na označení fľaše, ak sa uchováva zmrazené. Po rozmrazení všetok nepoužitý produkt možno nadávkovať do pracovných alikvót a znovu zmraziť na neskoršie použitie, alebo tesne nasadiť vrchnák a uchovávať pri teplote 2 °C – 8 °C do 30 dní. Chráňte pred fluorescenčným svetlom.

BEZPEČNOSTNÉ OPATRENIA A VAROVANIA
Toto zariadenie je určené na použitie personálom vyškoleným na procedúry, ktoré zahŕňajú aplikáciu, na ktorú je toto zariadenie určené.

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

БЪЛГАРСКИ

ПОКАЗАНИЯ ЗА УПОТРЕБА
CHANG Marrow 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 Marrow е готова за употреба среда, която се състои от IMDM с FBS (фетален говежди серум), буфер HEPES, L-глутамин, Giant Cell Tumor (GCT) Conditioned Medium (кондиционирана среда от гигантоклетъчен тумор (GCT)), рекомбинантен човешки гранулоцитно-макрофаген колонии стимулиращ фактор (GM-CSF) и гентамицин сулфат. CHANG Marrow е оптимизирана да поддържа ефективен растеж на клетки на костен мозък за цитогенетичен анализ. Не е необходимо добавяне на компоненти преди култивиране на костен мозък. CHANG Marrow съдържа гентамицин сулфат (50 mg/l). По желание могат да бъдат добавени допълнителни антибиотици.

КОМПОНЕНТИ

Аминокиселини	Протеини, хормони	Антибиотик
Аланин	и растежни фактори	Гентамицин
Аргинин	Фетален говежди	сулфат
Аспарагин	серум (FBS)	
Аспарагинова	hrGM-CSF	Други
киселина		Биотин
Цистин	Соли и йони	Кондиционирана
Глутаминова	Натриев хлорид	среда от
киселина	Натриев селенит	гигантоклетъчен
Глутамин	Калциев хлорид	тумор (GCT-CM)
Глицин	Холин хлорид	
Хистидин	Калиев хлорид	Витамини
Изолевцин	Калиев нитрат	и микроелементи
Левцин	Магнезиев сулфат	Фолиева киселина
Лизин	Натриев фосфат	Никотинамид
Метионин		Рибофлавин
Фенилаланин	Буфери	Тиамин
Пролин	Натриев	Пантотенова
Серин	бикарбонат	киселина
Треонин	HEPES	Кобаламин
Триптофан		Пиридоксин
Тирозин	Енергийни	
Валин	субстрати	Вода
	Глюкоза	Качество – вода
	Пируват	за инжектиране
	Инозитол	

КОНТРОЛ НА КАЧЕСТВОТО
Няколко фактора, включително източника на спесимени, състоянието на културите и избора на реагенти, могат да повлияят на получения резултат. На потребителите се препоръчва всяка нова партида реагент да се изпълнява паралелно с референтен материал с установена подходяща активност преди въвеждане в рутинна употреба. Всяка партида CHANG Marrow 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 анализ.

НЕОБХОДИМИ МАТЕРИАЛИ И ОБОРУДВАНЕ, КОИТО НЕ СА ДОСТАВЕНИ
1. Пластмасови, стерилни, центрофужни епруветки и слайд-флакони за култури
2. CO_2 инкубатор при 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:оцетна киселина (3:1)

ПОДГОТОВКА ЗА УПОТРЕБА
Размразете за една нощ в хладилник (2° C – 8° C), след което внимателно размесете, за да получите хомогенност. Асептично накапете 10 ml от средата в стерилни слайд-флакони за култури и еквилибрирайте до 37° C за незабавна употреба.

УКАЗАНИЯ ЗА УПОТРЕБА
I. Подготовка на проба:
Използвайте 0,5 до 1,0 ml натриево хепаринизиран аспират на костен мозък. Литиев хепарин, EDTA или цитратни антикоагуланти са неподходящи за цитогенетични изследвания.
- Ако е получен повече от 5 ml аспират на костен мозък , пробата може да е хемодилут (примесена с кръв). Центрофугирайте спесимена при 1200 rpm за 8 минути, за да изолирате фракцията костен мозък.
- Ако спесименът пристигне в трансферна среда, центрофугирайте пробата при 1200 rpm за 8 минути и отстранете транспортната среда (супернатант). Инокулирайте, като използвате останалата центрофугирана фракция на дъното на епруветката.

За допълнителни подробности относно използването на тези продукти всяка лаборатория трябва да направи справка със своите собствени лабораторни процедури и протоколи, които са конкретно разработени и оптимизирани за Вашата индивидуална медицинска програма.

II. Култура на костен мозък:
Обозначете с етикет всички съдове с култури с името на пациента, номера на спесимена и типа на културата.
1. Преди инокулацията на спесимена темперирайте CHANG Marrow до температурата на околната среда.
2. Инокулирайте всяка култура с подходящо количество проба, за да постигнете оптимална концентрация от 1 X 10^6 клетки/ml или 10 X 10^6 клетки на 10 ml култура.
3. Всяка отделна лаборатория трябва да определи броя култури, които да подготви, в зависимост от клиничните показания на пациента. По желание могат да бъдат добавени допълнителни растежни фактори.
4. Инкубирайте културите при 35° C – 39° C, 5% – 8% CO_2 атмосфера, докато станат готови за събиране.

Събиране на културите:
1. Извадете готовата за събиране култура от инкубатора и внимателно разклатете флакона, за да ресуспендирате клетките.
2. Прехвърлете съдържанието на всеки слайд-флакон в центрофужна епруветка от 15 ml.
3. Добавете 40 µl изходен разтвор на колцемид (10 µg/ml) към всяка епруветка с култура. Затворете плътно епруветките с капачка и внимателно смесете с преобръщане.
4. Инкубирайте епруветките при 35° C – 39° C за 45 минути.
5. След инкубация центрофугирайте епруветките за 8 минути при 1000 rpm.
6. Внимателно аспирирайте супернатанта от всяка епруветка с вакуумен аспиратор с филтър за разтворител. Внимавайте да не аспирирате пелетата.
7. Ресуспендирайте пелетата от клетки, като потупате с пръст дъното или стената на всяка епруветка.
8. Настройте таймера на 20 минути.
9. Добавете на капки 3 – 4 ml от предварително затоплен (35° C – 37° C) хипотоничен разтвор (0,075 M калиев хлорид).
10. Затворете плътно епруветката с капачка и внимателно смесете, като потупате с пръст дъното или стената на епруветката.
11. Добавете на капки 5 – 6 ml от предварително затоплен (35° C – 37° C) хипотоничен разтвор. Затворете плътно епруветката с капачка и я обърнете.
12. Повторете стъпки 9 – 11 за всяка епруветка.
13. Оставете епруветките да престоят на водна баня при 35° C – 37° C. Обърнете ги веднъж, когато 20-минутният таймер стигне до половината.
14. Когато 20-минутният таймер завърши, извадете епруветките от водната баня и към всяка епруветка добавете 1 ml пресен фиксиращ разтвор на Карной в съотношение 3:1. Затворете плътно всяка епруветка с капачка и я обърнете. (Това е стъпката с предварително използване на фиксиращ разтвор.)
15. Центрофугирайте епруветките за 8 минути при 1000 rpm.
16. Аспирирайте супернатанта от всяка епруветка, оставяйки около 1 ml над пелетата от клетки. Внимавайте да не аспирирате пелетата. 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 отстранят на ръка с помощта на пипета тип Пастьор (без използване на вакуумна аспирация), за да се избегне аспириране на цялата пелета от клетки в контейнера за отпадък.
17. Ресуспендирайте пелетата от клетки, както е описано в стъпка 7.
18. Добавете на капки 3 – 4 ml пресен фиксиращ разтвор на Карной в съотношение 3:1.
19. Добавете останалия фиксиращ разтвор до 7 ml.
20. Повторете стъпки 16 – 19 за всяка епруветка.
21. Оставете за 10 минути на стайна температура. (Това е първата стъпка с използване на фиксиращ разтвор)
22. Центрофугирайте епруветките за 8 минути при 1000 rpm.
23. Аспирирайте супернатанта, като оставите около 1 ml над пелетата от клетки. Ресуспендирайте пелетата от клетки.
24. Добавете фиксиращ разтвор до 7 ml. Центрофугирайте епруветките за 8 минути при 1000 rpm. (Втора стъпка с използване на фиксиращ разтвор).
25. Повторете стъпки 22 – 23. (Трета стъпка с използване на фиксиращ разтвор).
26. На този 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° C – 8° C) или камера за бъдеща употреба.

СЪХРАНЕНИЕ И СТАБИЛНОСТ
CHANG Marrow трябва да се съхранява замразена при температура под –10° C до момента на използването й. CHANG Marrow 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 плътно затворено с капачка и съхранено при температура 2° C – 8° C за до 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 Marrow съдържа FBS (фетален говежди серум) и кондиционирана среда от GCT (гигантско-клетъчен тумор) и с нея трябва да се борави съгласно универсалните лабораторни предпазни мерки. Средата съдържа антибиотик (гентамицин сулфат) за намаляване на риска от бактериална контаминация, но трябва винаги да се използват асептични методи при разпределяне на средата. Не използвайте среда, която не е червена на цвят.

HRVATSKI

INDIKACIJE ZA UPOTREBU
Medij CHANG Marrow namijenjen je za uzgoj primarne kulture kliničkih kultura ljudske koštane srži u svrhu kariotipizacije i drugih genetičkih testiranja za različite hematološke poremećaje.

OPIS PROIZVODA
Medij CHANG Marrow spreman je za upotrebu, a sastoji se od IMDM-a s FBS-om, pufera HEPES, L-glutamina, kondicioniranog medija gigantocelularnog tumora (GCT), rekombinantnog humanog GM-CSF-a i gentamicinsulfata. Medij CHANG Marrow optimiran je kako bi podržao učinkovit rast stanica koštane srži za citogenetičku analizu. Nije potrebno dodavati nikakve komponente prije uzgoja kulture koštane srži. Medij CHANG Marrow sadrži gentamicinsulfat (50 mg/l). Po želji se mogu dodati dodatni antibiotici.

KOMPONENTE

Aminokiseline	Proteini, hormoni	Antibiotik
Alanin	i čimbenici rasta	Gentamicinsulfat
Arginin	Fetalni govedi	
Asparagin	serum (FBS)	Ostalo
Aspartatna kiselina	hrGM-CSF	Biotin
Cistin		Kondicionirani medij
Glutamatna kiselina	Soli i ioni	gigantocelularnog
Glutamin	Natrijev klorid	tumora (GCT-CM)
Glicin	Natrijev selenit	
Histidin	Kalcijev klorid	Vitamini i elementi
Izoleucin	Kolinijev klorid	u tragovima
Leucin	Kalijev klorid	Folna kiselina
Lizin	Kalijev nitrat	Nikotinamid
Metionin	Magnezijev sulfat	Riboflavin
Fenilalanin	Natrijev fosfat	Tijamin
Prolin		Pantotenska kiselina
Serin	Puferi	Kobalamin
Treonin	Natrijev	Piridoksin
Triptofan	hidrogenkarbonat	
Tirozin	HEPES	Voda
Valin		Kvaliteta u skladu
	Energetski supstrati	s propisanom za
	Glukoza	vodu za injekcije
	Piruvat	
	Inozitol	

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 Marrow ispitane su na kliničkim kulturama koštane srži u neovisnom laboratoriju za kliničku citogenetiku i uspoređene su s kontrolnim medijem. Rezultati su navedeni na Potvrdi o analizi svake proizvodne serije.

POTREBNI MATERIJALI I OPREMA KOJI NISU PRILOŽENI
1. Plastične sterilne epruvete za centrifugu i tikvice za kulturu
2. CO_2 inkubator pri 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)

PRIPREMA ZA UPOTREBU
Odmrznite preko noći u hladnjaku (2 – 8 °C), zatim nježno promiješajte da osigurate homogenost. Aseptički prenijeti 10 ml medija u sterilne tikvice za kulturu i uravnotežiti na 37 °C kako bi se mogao odmah upotrijebiti.

UPUTE ZA UPOTREBU
I. Priprema uzorka:
upotrijebiti 0,5 do 1,0 ml aspirata koštane srži u heparinnatriju. Litijev heparin, EDTA i citratni antikoagulansi nisu podobni za citogenetička ispitivanja.
- Dobije li se više od 5 ml aspirata koštane srži, moguće je da je uzorak hemodiluiran. Centrifugirati uzorak 8 minuta na 1.200 o/min kako bi se izolirala frakcija koštane srži.
- Zaprimi li se uzorak u mediju za prijenos, centrifugirati uzorak 8 minuta na 1.200 o/min i ukloniti medij za prijenos (supernatant). Inokulirati preostalom centrifugiranom frakcijom s dna epruvete.

Dodatne pojedinosti 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.

II. Kultura koštane srži:
na svim posudama s kulturama navesti ime pacijenta, broj uzorka i vrstu kulture.
1. Prije inokulacije uzorka, dovedite CHANG Marrow na sobnu temperaturu.
2. Inokulirati svaku kulturu odgovarajućom količinom uzorka kako bi se postigla optimalna koncentracija od 1x10^6 stanica/ml ili 10x10^6 stanica po 10 ml kulture.
3. Svaki laboratorij mora utvrditi broj kultura koje mora pripremiti ovisno o kliničkim indikacijama pacijenta. Po želji se mogu dodati dodatni čimbenici rasta.
4. Inkubirati kulture pri 35 – 39 °C, u atmosferi od 5 – 8% CO_2 dok ne budu spremne za prikupljanje.

Prikupljanje kultura:
1. Ukloniti kulturu spremnu za prikupljanje iz inkubatora i lagano zavrtiti tikvicu da bi se obnovila suspenzija stanica.
2. Prenijeti sadržaj svake tikvice u epruvetu od 15 ml za centrifugu.
3. U svaku epruvetu kulture dodati 40 µl temeljne standardne otopine kolcemida (10 µg/ml). Čvrsto začepiti epruvete i miješati prevrtanjem.
4. Inkubirati epruvete 45 minuta pri 35 – 39 °C.
5. Nakon inkubacije centrifugirati epruvete 8 minuta na 1.000 o/min.
6. Pažljivo aspirirati supernatant iz svake epruvete s pomoću vakuumskog aspiratora proizvodom za ekstrakciju otapala. Pripazite da ne aspirirate talog.
7. Obnoviti suspenziju taloga stanica tapkanjem prstom po dnu ili sa strana svake epruvete.
8. Pokrenite 20-minutni brojač vremena.
9. Dodati kap po kap 3 – 4 ml prethodno zagrijane (35 – 37 °C) hipotonične otopine (0,075 M kalijev klorid).
10. Čvrsto začepiti epruvetu i lagano promiješati tapkanjem prstom po dnu ili sa strana epruvete.
11. Dodati kap po kap 5 – 6 ml prethodno zagrijane (35 – 37 °C) hipotonične otopine. Čvrsto začepiti i prevrnuti epruvetu.
12. Ponoviti 9. – 11. korak za svaku epruvetu.
13. Pustiti da epruvete odstoje u vodenoj kupelji na 35 – 37 °C. Prevrnuti epruvete jedanput na polovici vremena 20-minutnog brojača.
14. Po isteku vremena 20-minutnog brojača, ukloniti epruvete iz vodene kupelji i dodati 1 ml svježeg 3:1 Carnoyevog fiksativa u svaku epruvetu. Čvrsto začepiti i prevrnuti svaku epruvetu. (ovo je korak prije fiksativa)
15. Centrifugirati epruvete 8 minuta na 1.000 o/min.
16. Aspirirati supernatant iz svake epruvete, ostavljajući oko 1 ml iznad taloga stanica. Pripazite da ne aspirirate talog. paziti na vlaknasti materijal koji se može protezati iz taloga stanica u supernatant nakon centrifuge. Možda će biti potrebno ručno ukloniti posljednjih nekoliko ml supernatanta koristeći se Pasteurovom pipetom (ne vakuumskom aspiracijom) da ne bi došlo do aspiracije čitavog taloga stanica u spremnik za otpad.
17. Obnoviti suspenziju taloga stanica kako je opisano u 7. koraku.
18. Dodati kap po kap 3 – 4 ml svježeg 3:1 Carnoyevog fiksativa.
19. Dodati preostali fiksativ do 7 ml.
20. Ponoviti 16. – 19. korak za svaku epruvetu.
21. Neka odstoji 10 minuta pri sobnoj temperaturi. (ovo je prvi korak fiksativa)
22. Centrifugirati epruvete 8 minuta na 1.000 o/min.
23. Aspirirati supernatant i ostaviti otprilike 1 ml iznad taloga. Obnoviti suspenziju taloga stanica.
24. Dodati fiksativ do 7 ml. Centrifugirati epruvete 8 minuta na 1.000 o/min. (drugi korak fiksativa)
25. Ponoviti 22. – 23. korak (treći korak fiksativa).
26. 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) ili zamrzivaču za upotrebu u budućnosti.

POHRANA I STABILNOST
Medij CHANG Marrow mora se čuvati zamrznut na temperaturi manjoj od -10 °C dok ne bude spreman za upotrebu. Medij CHANG Marrow stabilan je do isteka roka valjanosti koji je naveden na oznaci boce kada ga 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 začepiti 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 koju je namijenjen ovaj proizvod.

Medij CHANG Marrow sadrži FBS i kondicionirani medij GCT-a i njime se mora rukovati primjenjujući univerzalne laboratorijske mjere opreza. Medij sadrži antibiotik (gentamicinsulfat) 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.

MALTI

INDIKAZZJONI GĦALL-UŻU
CHANG Marrow huwa maħsub għall-użu fil-koltura primarja ta' Kolturi Kliniċi ta' Mudullun Uman għall-karjotipjar u testijiet ġenetiċi oħra ta' diversi mard ematoloġiku.

DESKRIZZJONI TAL-APPARAT
CHANG Marrow huwa midjum lest għall-użu li fih IMDM, b'FBS, bafer ta' HEPES, L-glutamine, Giant Cell Tumor (GCT) Conditioned Medium, Recombinant Human GM-CSF u Gentamicin Sulfate. CHANG Marrow ġie ottimizzat sabiex jappoġġa t-tkabbir effiċjenti taċ-ċelloli tal-mudullun għall-analiżi ċitoġenetika. Mhix meħtieġa ż-żieda ta' ebda komponenti qabel it-tkabbir tal-mudullun. CHANG Marrow fih gentamicin (50 mg/L). Jistgħu jiżdiedu antibijotiċi addizzjonali jekk ikun mixtieq.

KOMPONENTI

Aċidi Amminiċi	Proteini, Ormoni	Antibijotiku
Alanine	u Fatturi ta' Tkabbir	Gentamicin Sulfate
Arginine	Fetal bovine	
Asparagine	serum (FBS)	Oħrajn
Aspartic Acid	hrGM-CSF	Biotin
Cystine		Giant cell tumor
Glutamic Acid	Imluħa u Joni	conditioned midjum
Glutamine	Sodium chloride	(GCT-CM)
Glycine	Sodium selenite	
Histidine	Calcium chloride	Vitamini
Isoleucine	Choline chloride	u mikroelementi
Leucine	Potassium chloride	Folic acid
Lysine	Potassium nitrate	Nicotinamide
Methionine	Magnesium sulfate	Riboflavin
Phenylalanine	Sodium phosphate	Thiamine
Proline		Pantothenic acid
Serine	Bafers	Cobalamin
Threonine	Sodium bicarbonate	Pyridoxine
Tryptophan	HEPES	
Tyrosine		Ilma
Valine	Substrati tal-	Kwalità tal-WFI
	Enerġija	(Ilma għall-
	Glucose	Injezzjonijiet)
	Pyruvate	
	Inositol	

ASSIGURAZZJONI TAL-KWALITÀ
Bosta fatturi inkluż is-sors tal-kampjuni, il-kundizzjonijiet tat-tkabbir u l-għażla tar-reaġenti jistgħu jinfluwenzaw ir-riżultat miksub. L-utenti jingħataw il-parir li jħaddmu kull ammont ġdid tar-reaġent b'mod parallel mal-materjal ta' referenza b'attività xierqa magħrufa qabel ma jibda jintuża b'mod regolari. Il-prestazzjoni ta' kull lott ta' CHANG Marrow ġiet ittestjata fuq Kolturi Kliniċi tal-Mudullun f'Laboratorju ta' Ċitoġenetika Klinika indipendenti fi tqabbil ma' midjum ta' kontroll. Ir-riżultati jiġu rrappurtati fuq Ċertifikat ta' Analizi speċifiku.

MATERJALI U TAGĦMIR MEĦTIEĠ IŻDA MHUX IPPROVDUT
1. Tubi Sterili tal-Plastik taċ-Ċentrifugu u Flasks tat-Tkabbir
2. Inkubatur ta' CO_2 f'temperatura ta' 37°C
3. Ċentrifugu ta' fuq il-Bank
4. Vortex Mixer
5. Soluzzjoni Ewlenija ta' Colcemid, 10 µg/mL
6. Soluzzjoni ta' Potassium Chloride, 0.075 M
7. Soluzzjoni Fissattiva, Methanol:Acetic Acid (3:1)

PREPARAZZJONI GĦALL-UŻU
Ħalli li jinħall matul il-lejl fi friġġ (2 - 8°C), imbagħad ħallat bil-mod sabiex tiġi żgurata l-omoġeneità. B'mod asettiku ddistribwixxi 10 mL tal-midjum ġo flasks sterili tat-tkabbir u ekwilibra għal temperatura ta' 37°C għall-użu immedjat.

ISTRUZZJONIJIET DWAR L-UŻU
I. Preparazzjoni tal-Kampjun:
Uża 0.5 sa 1.0 mL ta' aspirat tal-mudullun miżjud b'sodium heparin. Lithium heparin, EDTA, jew citrate anticoagulants mhumiex adattati għal studji ċitoġenetiċi.
- Jekk iktar minn 5 mL ta' aspirat tal-mudullun jiġi riċevut, il-kampjun jista' jiġi emodilwit (hemodilute). Iċċentrifuga l-kampjun 'l isfel fuq 1,200 rpm għal 8 minuti sabiex tiżola l-parti tal-mudullun.
- Jekk il-kampjun jasal f'midjum tat-trasport, iċċentrifuga l-kampjun 'l isfel fuq 1,200 rpm għal 8 minuti u neħħi l-midjum tat-trasport (is-supernatant). Inokula bl-użu tal-frazzjoni ċċentrifugata li jifdal fil-qiegħ tat-tubu.

Għal dettalji addizzjonali dwar l-użu ta' dawn il-prodotti, kull laboratorju għandu jikkonsulta l-proċeduri u l-protokolli tal-laboratorju tiegħu stess li ġew żviluppati u ottimizzati speċifikament għall-programm mediku individwali tiegħek.

II. It-Tkabbir tal-Mudullun:
Agħmel tikketta bl-isem tal-pazjent, in-numru tal-kampjun, u t-tip ta' koltura fuq il-kontenituri tal-kolturi kollha.
1. Qabel l-inokulazzjoni tal-kampjun, ġib iċ-CHANG Marrow għal temperatura ambjentali.
2. Inokula kull koltura bl-ammont xieraq tal-kampjun sabiex tilħaq il-konċentrazzjoni ottimali ta' 1x10^6 ċelloli/mL jew 10 x 10^6 ċelloli għal kull 10 mL tal-koltura.
3. Kull laboratorju individwali għandu jiddetermina n-numru ta' kolturi li għandu jipprepara skont l-indikazzjoni klinika tal-pazjent. Jistgħu jiżdiedu fatturi tat-tkabbir addizzjonali jekk ikun mixtieq.
4. Inkuba l-kolturi f'temperatura ta' 35 - 39°C, f'atmosfera ta' 5–8% CO_2 sakemm ikunu lesti għall-ħsad.

Il-Ħsad tal-Kolturi:
1. Neħħi l-koltura lesta għall-ħsad mill-inkubatur u dawwar il-flask bil-mod biex tissospendi ċ-ċelloli mill-ġdid.
2. Ittrasferixxi l-kontenut ta' kull flask għal tubu ċentrifugu ta' 15 mL.
3. Żid 40 µL tas-soluzzjoni ewlenija ta' Colcemid (10 µg/mL) f'kull tubu tal-koltura. Agħlaq it-tubi b'mod sikur u ħawwad billi taqlibhom 'l isfel bil-mod.
4. Inkuba t-tubi f'temperatura ta' 35 - 39°C għal 45 minuta.
5. Wara l-inkubazzjoni, iċċentrifuga t-tubi għal 8 minuti fuq 1,000 rpm.
6. Bir-reqqa aspira s-supernatant minn kull tubu bl-użu ta' aspirazzjoni b'vakum, bl-ilqugħ għas-solvent. Oqgħod attent li ma taspirax il-gerbuba.
7. Erġa' ssospendi l-gerbuba taċ-ċelloli billi tagħti daqqa ħafifa b'subgħajk lill-qiegħ jew il-ġenb ta' kull tubu.
8. Issettja l-kronometru fuq 20 minuta.
9. Qatra qatra, żid 3 - 4 mL ta' soluzzjoni ipotonika (0.075M Potassium Chloride) imsaħħna minn qabel (35 - 37°C).
10. Agħlaq it-tubu b'mod sikur u ħawwad bil-mod billi tagħti daqqa ħafifa b'subgħajk lill-qiegħ jew il-ġenb tat-tubu.
11. Qatra qatra, żid 5 - 6 mL ta' soluzzjoni ipotonika msaħħna minn qabel (35 - 37°C). Agħlaq it-tubu b'mod sikur u aqleb it-tubu 'l isfel.
12. Irrepeti l-Punti 9 - 11 għal kull tubu.
13. Bl-użu ta' banju bl-ilma, ħalli t-tubi joqogħdu f'temperatura ta' 35 - 37°C. Aqleb it-tubi 'l isfel darba meta l-kronometru jasal f'nofs l-20 minuta.
14. Fl-aħħar tal-20 minuta fuq il-kronometru, neħħi t-tubi mill-banjumarija u żid 1 mL ta' 3: 1 Carnoy's Fixative frisk f'kull tubu. Agħlaq it-tubu b'mod sikur u aqleb kull tubu 'l isfel. (Dan huwa l-pass ta' Qabel il-Fissattiv).
15. Iċċentrifuga t-tubi għal 8 minuti fuq 1,000 rpm.
16. Aspira s-supernatant minn kull tubu waqt li tħalli madwar 1 mL fuq kull gerbuba ta' ċelloli. Oqgħod attent li ma taspirax il-gerbuba. Oqgħod attent għall-materjal fibruż li jista' jestendi mill-gerbuba taċ-ċelloli 'l fuq għal ġos-supernatant wara ċ-ċentrifugazzjoni. Jista' jkun li l-aħħar ftit mL tas-supernatant ikollhom jitneħħew manwalment b'pipetta Pasteur (mhux bl-użu ta' aspirazzjoni b'vakum) sabiex jiġi evitat li tiġi aspirata l-gerbuba taċ-ċelloli kollha fil-kontenitur tal-iskart.
17. Erġa' ssospendi l-gerbuba taċ-ċelloli kif deskritt fil-Punt 7.
18. Qatra qatra, żid 3 - 4 mL ta' 3:1 Carnoy's Fixative frisk.
19. Żid il-fissattiv li jibqa' sabiex il-volum totali fit-tubu jkun ta' 7 mL.
20. Irrepeti l-punti 16 - 19 għal kull tubu.
21. Ħallihom joqogħdu għal 10 minuti f'temperatura ambjentali. (Dan huwa l-Ewwel pass fissattiv).
22. Iċċentrifuga t-tubi għal 8 minuti fuq 1,000 rpm.
23. Aspira s-supernatant u ħalli madwar 1 mL fuq il-gerbuba. Erġa' ssospendi l-gerbuba taċ-ċelloli.
24. Żid il-fissattiv, sa 7 mL. Iċċentrifuga t-tubi għal 8 minuti fuq 1,000 rpm. (It-tieni pass fissattiv).
25. Irrepeti l-punti 22 - 23. (It-tielet pass fissattiv).
26. F'dan il-punt, il-gerbubi taċ-ċelloli ffissati jistgħu jintużaw immedjatament għall-preparazzjoni tal-islajds skont il-protokoll standard tal-laboratorju jew jinħażnu fil-friġġ (2 - 8°C) jew fil-friża għall-użu fil-futur.

ĦAŻNA U STABBILTÀ
CHANG Marrow għandu jinħażen iffriżat f'temperatura ta' inqas minn –10°C sakemm ikun lest biex jintuża. CHANG Marrow huwa stabbli sad-data ta' skadenza li tidher fuq it-tikketta tal-flixkun meta maħżun iffriżat. Wara li jinħall, jekk jibqa' xi ammont ta' prodott li ma ntużax dan jista' jiġi ddispensat f'alikwoti utilizzabbli u ffriżat mill-ġdid għal użu fil-futur, jew jingħalaq sew u jinħażen f'temperatura ta' 2 - 8°C għal mhux iktar minn 30 jum. Ipproteġi minn dawl fluworexxenti.

PREKAWZJONIJIET U TWISSIJIET
Dan l-apparat huwa maħsub għall-użu minn persunal imħarreġ fi proċeduri li jinkludu l-applikazzjoni indikata li għaliha huwa maħsub l-apparat.

CHANG Marrow fih FBS u GCT conditioned midjum u għandu jiġi mmaniġġjat bil-prekawzjonijiet universali tal-laboratorju. Dan il-midjum fih antibijotiku (gentamicin sulfate) sabiex jitnaqqas il-potenzjal għall-kontaminazzjoni mill-batterji, iżda dejjem għandhom jintużaw tekniċi asettiċi meta jiġi ddispensat dan il-midjum. M'għandekx tuża l-ebda midjum li mhuwiex ta' kulur ħamrani.

SLOVENŠČINA

INDIKACIJE ZA UPORABO
Medij CHANG Marrow je namenjen za uporabo v primarnih kliničnih kulturah humanega kostnega mozga za določanje kariotipa in druge genske preiskave različnih hematoloških motenj.

OPIS PRIPOMOČKA
CHANG Marrow je medij, ki je že pripravljen za uporabo in vsebuje IMDM, FBS, pufer HEPES, L-glutamin, Giant Cell Tumor (GCT) Conditioned Medium, Recombinant Human GM-CSF in gentamicinijev sulfat. Medij CHANG Marrow je optimiziran za podporo učinkovite rasti celic kostnega mozga za citogensko analizo. Pred gojenjem kostnega mozga ni treba dodati nobenih komponent. Medij CHANG Marrow vsebuje gentamicinijev sulfat (50 mg/l). Po želji lahko dodate še več antibiotikov.

KOMPONENTE

Aminokisline	Beljakovine,	Antibiotik
Alanin	hormoni in rastni	Gentamicinijev sulfat
Arginin	faktorji	
Asparagin	Serum govejega	Drugo
Asparaginska kislina	zarodka (FBS)	Biotin
Cistin	hrGM-CSF	Kondicioniran medij
Glutaminska kislina		iz velikoceličnih
Glutamin	Soli in ioni	tumorjev (GCT-CM)
Glicin	Natrijev klorid	
Histidin	Natrijev selenit	Vitamini in elementi
Izolevcin	Kalcijev klorid	v sledovih
Levcin	Holinklorid	Folna kislina
Lizin	Kalijev klorid	Nikotinamid
Metionin	Kalijev nitrat	Riboflavin
Fenilalanin	Magnezijev sulfat	Tiamin
Prolin	Natrijev fosfat	Pantotenska kislina
Serin		Kobalamin
Treonin	Pufri	Piridoksin
Triptofan	Natrijev bikarbonat	
Tirozin	HEPES	Voda
Valin		Kakovost, ki ustreza
	Energijski substrati	vodi za injekcije
	Glukoza	
	Piruvat	
	Inozitol	

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

POTREBNI MATERIALI IN PRIPOMOČKI, KI NISO PRILOŽENI
1. Plastične, sterilne, centrifugirne epruvete in bučke za gojenje kultur
2. Inkubator CO_2 pri 37 °C
3. Namizna centrifuga
4. Vrtinčni mešalnik
5. Osnovna raztopina kolcemida, 10 µg/ml
6. Raztopina kalijevega klorida, 0,075 M
7. Fiksacijska raztopina metanola in ocetne kisline (razmerje 3 : 1)

PRIPRAVA ZA UPORABO
Čez noč ga odtalite v hladilniku (2–8 °C) in nato previdno premešajte, da zagotovite homogenost. Aseptično razdelite 10 ml medija v sterilne bučke za gojenje kultur in ga uravnotežite na 37 °C za takojšnjo uporabo.

NAVODILA ZA UPORABO
I. Priprava vzorcev:
Uporabite od 0,5 do 1,0 ml aspirata kostnega mozga z dodatkom natrijevega heparina. Litijev heparin, EDTA ali citratni antikoagulansi niso primerni za citogenske študije.
- Če prejmete več kot 5 ml aspirata kostnega mozga, je vzrok lahko v hemodiluciji vzorca. V tem primeru vzorec 8 minut centrifugirajte pri 1.200 vrt./min, da izolirate frakcijo kostnega mozga.
- Če vzorec prejmete v mediju za prenos, ga 8 minut centrifugirajte pri 1.200 vrt./min in odstranite medij za prenos (supernatant). Inokulirajte z uporabo preostale centrifugirane frakcije na dnu epruvete.

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

II. Gojitev kostnega mozga:
Na vse posode za gojenje kultur zapišite ime bolnika, številko vzorca in tip kulture.
1. Pred inokulacijo vzorca ogrejte medij CHANG Marrow na okoliško temperaturo.
2. Vsako kulturo inokulirajte z ustrezno količino vzorca, da dobite optimalno koncentracijo 1 x 10^6 celic/ml ali 10 x 10^6 celic na 10 ml kulture.
3. Število kultur, ki jih je treba pripraviti glede na bolnikovo klinično indikacijo. Po želji lahko dodate rastne faktorje.
4. Kulture inkubirajte pri 35–39 °C v atmosferi s 5–8 % CO_2, dokler ne bodo zrele za spravljanje.

Pobiranje kultur:
1. Kulturo, ki je pripravljena za spravljanje, odstranite iz inkubatorja in jo nežno vrtinčite, da ponovno suspendirate celice.
2. Vsebino vsake bučke prenesite v 15 ml centrifugirno epruveto.
3. V vsako epruveto s kulturo dodajte 40 µl osnovne raztopine kolcemida (10 µg/ml). Epruvete zaprite tesno in premešajte vsebino z obračanjem.
4. Epruvete 45 minut inkubirajte pri temperaturi 35–39 °C.
5. Po inkubaciji epruvete 8 minut centrifugirajte pri 1.000 vrt./min.
6. Supernatant iz vsake epruvete previdno aspirirajte z vakuumskim aspiratorjem, ki ima lovilnik topil. Pazite, da ne boste aspirirali usedline.
7. Celično usedlino ponovno suspendirajte, tako da po dnu ali strani vsake epruvete potrkate s prstom.
8. Sprožite 20-minutni časovnik.
9. Po kapljicah dodajte 3–4 ml predhodno ogrete (35–37 °C) hipotonične raztopine (0,075 M kalijev klorid).
10. Epruveto tesno zaprite in nežno zmešajte, tako da po dnu ali strani epruvete potrkate s prstom.
11. Po kapljicah dodajte 5–6 ml predhodno ogrete (35–37 °C) hipotonične raztopine. Epruveto tesno zaprite in obrnite na glavo.
12. Za vsako epruveto ponovite korake od 9–11.
13. Z vodno kopeljo pustite epruvete stati pri 35–37 °C. Epruvete obrnite enkrat na sredini 20 minut časovnika.
14. Ko 20 minut na časovniku poteče, epruvete odstranite iz vodne kopeli in vsaki epruveti dodajte 1 ml svežega fiksacijskega sredstva Carnoy's Fixative v razmerju 3 : 1. Vsako epruveto dobro zatesnite s pokrovčkom in jo obrnite na glavo. (To je korak pred fiksacijo.)
15. Epruvete centrifugirajte 8 minut pri 1.000 vrt./min.
16. Supernatant iz vsake epruvete aspirirajte, pri tem pa pustite približno 1 ml nad celično usedlino. Pazite, da ne boste aspirirali usedline. Pazite na vlaknasto snov, ki se po centrifugiranju lahko širi iz celične usedline v supernatant. Zadnjih nekaj ml supernatanta boste morda morali ročno odstraniti s Pasteurjevo pipeto (ne z vakuumsko aspiracijo), da preprečite aspiracijo celotne celične usedline v posodo za odpadke.
17. Ponovno suspendirajte celično usedlino, kot je opisano v 7. koraku.
18. Po kapljicah dodajte 3–4 ml svežega fiksacijskega sredstva Carnoy's Fixative v razmerju 3 : 1.
19. Preostalo fiksacijsko sredstvo dodajte do prostornine 7 ml.
20. Za vsako epruveto ponovite korake od 16–19.
21. Epruvete pustite stati 10 minut pri sobni temperaturi. (To je prvi korak fiksacije.)
22. Epruvete centrifugirajte 8 minut pri 1.000 vrt./min.
23. Aspirirajte supernatant, tako da nad celično usedlino ostane približno 1 ml. Celično usedlino suspendirajte še enkrat.
24. Fiksacijsko sredstvo dodajte do prostornine 7 ml. Epruvete centrifugirajte 8 minut pri 1.000 vrt./min. (Drugi korak fiksacije.)
25. Ponovite korake od 22 do 23. (Tretji korak fiksacije.)
26. Na tej točki se lahko fiksirane celične usedline takoj uporabijo za pripravo preparatov skladno s standardnim protokolom laboratorija ali shranijo v hladilnik (2–8 °C) ali zamrzovalnik za nadaljnjo uporabo.

SHRANJEVANJE IN STABILNOST
Medij CHANG Marrow je treba shranjevati zamrznjen pri temperaturi pod –10 °C, dokler ni pripravljen za uporabo. Če se medij CHANG Marrow shranjuje zamrznjen, je stabilen do datuma izteka uporabnosti, ki je naveden na nalepki steklenice. Odtaljen izdelek, ki ga niste porabili, lahko razdelite na delovne alikvote 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.

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

CHANG Marrow vsebuje kondicioniran medij (FBS in GCT) in z njim je treba ravnati skladno z univerzalnimi laboratorijskimi previdnostnimi ukrepi. Medij vsebuje antibiotik (gentamicinijev sulfat) za zmanjšanje tveganja bakterijske kontaminacije, vendar je treba pri razporejanju medija vedno uporabljati aseptične tehnike. Ne uporabljajte nobenega medija, ki ni rdeče barve.