

Usage prévu

CytogenLympho est utilisé pour cultiver des lymphocytes humains à partir de sang périphérique. Il est destiné au diagnostic humain *in-vitro*.

Composition

Milieu basal, phytohématagglutinine (PHA), FBS pré-testé, rouge phénolique, tamponnage par NaHCO_3 ; contient de la pénicilline streptomycine et de la L-glutamine.

Durée de conservation et de stockage

Le milieu CytogenLympho non ouvert peut être conservé pendant 15 mois à partir de la date de fabrication s'il est stocké à une température $\leq -18^\circ\text{C}$. Après ouverture, conserver le flacon entre $+2^\circ\text{C}$ et $+8^\circ\text{C}$ et continuer à l'utiliser pendant 7 jours au maximum. Éviter la décongélation et la congélation répétées.

Décongeler

Décongeler CytogenLympho Medium à une température de $+2^\circ\text{C}$ à $+8^\circ\text{C}$ pendant une nuit. Une décongélation au bain-marie à 37°C n'est pas recommandée. Avant utilisation, bien mélanger CytogenLympho Medium. Le pH normal est de 7,2, comme l'indique l'indicateur rouge phénolique. En cas d'écart de pH (jaune ou rose), le pH est déterminé par incubation du flacon légèrement ouvert (env. $\frac{1}{4}$ de tour du couvercle) dans un incubateur à 5% de CO_2 jusqu'à ce que le milieu atteigne la couleur rouge normale. Le milieu CytogenLympho ne contient pas de composants dont la qualité peut être affectée par des variations de pH de ± 2 . Un milieu chauffé à 37°C et un pH correct garantissent un démarrage optimal de la culture.

Protocole standard

La méthode décrite ci-dessous est un guide pour l'utilisation du CytogenLympho dans la culture de lymphocytes à partir de sang périphérique. Le milieu CytogenLympho est conditionné dans des conditions aseptiques. Le maintien de la stérilité du produit est nécessaire pour son utilisation dans le diagnostic *in vitro* et doit être strictement respecté par l'utilisateur. Bien tendu, ce support de haute qualité peut être intégré dans le propre processus de travail. Il appartient à l'utilisateur de décider si les protocoles, entre autres, doivent être repris intégralement ou seulement partiellement dans ses propres protocoles.

Recommandation pour la culture

- Décongeler le CytogenLympho et l'aliqoter par exemple à 5 ml (tubes stériles)
- Décongeler la quantité de CytogenLympho à utiliser à température ambiante
- Ajouter 0,5 ml de sang total hépariné dans un flacon de culture cellulaire contenant environ 5 ml de milieu
- Mélanger et incubé pendant 48 à 72 heures à $+37^\circ\text{C}$, 5% de CO_2 dans l'incubateur
- 1 à 2 heures avant la fin de l'incubation, ajouter 0,1 ml de colcémide (concentration finale 0,1 $\mu\text{g/ml}$) et mélanger doucement

Recommandation pour la récolte des cellules

- Préchauffer 0,075 M de chlorure de potassium à 37°C
- Centrifuger pendant 5 minutes à 500x g
- Jeter le surnageant (ne pas enlever complètement)
- Ajouter 5 à 10 ml de solution chauffée de chlorure de potassium 0,075 M aux cellules et bien mélanger
- Incuber à température ambiante pendant 10 minutes
- Centrifuger pendant 5 minutes à 500x g
- Préparer la solution de fixation fraîchement sur la glace (3 parties de méthanol pour 1 partie d'acide acétique)
- Jeter le surnageant (ne pas enlever complètement)
- Ajouter 5 à 8 ml de solution de fixation
- Répéter les deux dernières étapes (incubation et centrifugation) 2 x
- Remettre en suspension le culot cellulaire dans un petit volume de solution de fixation
- Procéder selon le protocole correspondant à la création du caryogramme

Remarques importantes

- Des cristaux d'oxalate de calcium peuvent parfois se former, mais ils n'ont jusqu'à présent montré aucun effet négatif sur la croissance cellulaire.
- La décongélation dans un bain-marie à 37°C doit être évitée, car des précipités peuvent se former.

Avertissements et mesures de précautions

- Le maintien de la stérilité du produit est nécessaire à son utilisation et doit être strictement respecté par l'utilisateur.
- Ne convient pas pour une utilisation thérapeutique chez l'homme ou l'animal.
- Utilisation uniquement par du personnel qualifié et formé.
- Ne pas utiliser des bouteilles dont l'emballage a été endommagé.
- Ne pas utiliser CytogenLympho Medium au-delà de la date de péremption indiquée sur l'étiquette.
- Les échantillons de patients sont du matériel biologique et des mesures de sécurité doivent donc être prises conformément aux dispositions locales relatives au travail avec du matériel potentiellement infectieux.
- Cytogen GmbH ne garantit pas le succès des tests de diagnostic uniquement par l'utilisation de produits Cytogen.
- Signalez les incidents graves liés à ce produit au fabricant et aux autorités compétentes.

Marquage CE

Avec CytogenLympho, Cytogen propose un milieu marqué CE qui répond aux exigences réglementaires en matière de dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro*, définies par la Commission européenne.

Explication des symboles

	Respecter les instructions d'utilisation
	In vitro-Méthode diagnostique
	Numéro d'article
	Numéro de lot de fabrication, lot
	Utilisable jusqu'au
	Limitation de température

	Fabricant
	Date de fabrication
	Stérilisé par des procédés aseptiques
	Ne pas utiliser si l'emballage est endommagé
	Protéger de la lumière du soleil.

Fabricant



Cytogen Produkte für Medizin + Forschung GmbH
 Nordwalder Str. 120
 48268 Greven
 Allemagne

Tél. +49 2571 560180
 Fax +49 2571 9219118
 E-mail : info@cytogen.net
 Web : www.cytogen.net

