

**ACHTUNG: Die Patientenproben sind Biologisches Material und somit Sicherheitsvorkehrungen notwendig.**

#### Zweckbestimmung

Lymphogrow III Medium dient der Kultivierung von humanen Lymphozyten aus peripherem Blut und ist ausschließlich für die Anwendung mit aus Menschen stammenden Proben in der *in vitro* Diagnostik bestimmt.

#### Zusammensetzung

Basalmedium, Phytohämagglutinin (PHA), vorgetestetes FBS, Phenolrot, Pufferung durch NaHCO<sub>3</sub>; beinhaltet Antibiotika (Pen/Strep) und L-Glutamin.

#### Haltbarkeit und Lagerung

Lymphogrow III ist bei einer Lagerung ≤-18 °C für 15 Monate ab Herstellungsdatum haltbar. Aus Qualitäts- und Sterilitätsgründen ist die Verwendung von Lymphogrow III Medium nach dem Öffnen bei einer Lagerung von +2 °C bis +8 °C von maximal 7 Tagen zu empfehlen. Wiederholtes Auftauen und Einfrieren sollte vermieden werden. Lymphogrow III Medium nicht über dem auf dem Etikett angegebenen Verfalldatum verwenden

#### Auftauen

Lymphogrow III Medium bei +2 °C bis +8 °C über Nacht auftauen. Ein Auftauen im Wasserbad bei 37°C wird nicht empfohlen. Vor Gebrauch Lymphogrow III Medium gut mischen. Der normale pH-Wert beträgt 7,2 wie durch den Phenolrot-Indikator angezeigt wird. Im Fall einer pH Abweichung (gelb oder pink) wird der pH-Wert durch Inkubation der leicht geöffneten Flasche (ca. ¼ Drehung des Deckels) in einem 5% CO<sub>2</sub> Inkubator äquilibriert bis das Medium die normale Farbe Rot erreicht hat. Lymphogrow III Medium enthält keine Komponenten deren Qualität durch pH Schwankungen von +/- 2 beeinträchtigt wird. Angewärmtes Medium bei 37°C und korrektem pH-Wert sorgt für einen optimalen Start der Kultur.

#### Protokoll

Die unten beschriebene Methode ist eine Anleitung für den Einsatz von Lymphogrow III Medium in der Kultivierung von Lymphozyten aus peripherem Blut. Lymphogrow III ist unter aseptischen Bedingungen abgefüllt. Die Erhaltung der Sterilität des Produktes ist für die Verwendung in der *in vitro* Diagnostik notwendig und muss vom Anwender strikt eingehalten werden. Selbstverständlich kann dieses hochwertige Medium in den eigenen Arbeitsablauf integriert werden. Es obliegt dem Anwender, ob die u. a. Protokolle vollständig oder nur teilweise in die eigenen Protokolle übernommen werden.

#### Empfehlung für die Kultivierung

- Lymphogrow III Medium auftauen und z. B. zu je 5 ml aliquotieren (sterile Röhrchen)
- Zu verbrauchende Menge Lymphogrow III Medium bei Raumtemperatur auftauen
- 0,5 ml heparinisiertes Vollblut in das Röhrchen mit ca. 5 ml Medium hinzugeben
- Mischen und für 48 bis 72 Stunden bei +37 °C, 5% CO<sub>2</sub> im Inkubator bebrüten
- 1 – 2 Stunden vor Ende der Inkubation mit 0,1 ml Colcemid versetzen (Endkonzentration 0,1 µg/ml) und sanft mischen

#### Empfehlung für die Zellernte

- 0,075 M Kaliumchlorid bei 37 °C vorwärmen
- 5 Minuten bei 500x g zentrifugieren

- Überstand verwerfen (nicht vollständig abnehmen)
- 5 – 10 ml erwärmte 0,075 M Kaliumchlorid-Lösung zu den Zellen geben und gründlich mischen
- 10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren
- 5 Minuten bei 500x g zentrifugieren
- Fixierlösung frisch auf Eis zubereiten (3 Teile Methanol zu 1 Teil Essigsäure)
- Überstand verwerfen (nicht vollständig abnehmen)
- 5 – 8 ml Fixierlösung hinzugeben
- Die letzten beiden Schritte (Inkubation und Zentrifugation) 2 x wiederholen
- Zell-Pellet in einem kleinen Volumen Fixierlösung resuspendieren
- Nach entsprechendem Protokoll zur Karyogrammerstellung weiter verfahren

#### Wichtige Beobachtung

- Es können sich gelegentlich Kalziumoxalatkristalle bilden, die aber bislang keine negativen Einflüsse auf das Zellwachstum gezeigt haben.
- Das Auftauen in einem Wasserbad bei 37°C sollte vermieden werden, da sich da Präzipitate bilden können.

#### Wichtige Anmerkungen

- Ausschließlich für die *in vitro* Diagnostik (IVD) bestimmt
- ACHTUNG: Nicht für die therapeutische Anwendung in Menschen oder Tieren geeignet. Eine Verwendung des Mediums anders als in der Zweckbestimmung beschrieben, kann gegen lokale gesetzliche Bestimmungen verstoßen.
- Jedes Labor ist verpflichtet, repräsentative Tests nach den gültigen gesetzlichen Bestimmungen durchzuführen, bevor das Medium in der Routine-Diagnostik verwendet werden kann.
- Die unabhängige Beurteilung, ob sich das vorliegende Medium für die Anwendung in der *in vitro* Diagnostik im eigenen/durchführenden Labor mit den dort verwendeten Systemen eignet, obliegt der verantwortlichen Person im durchführenden Labor.
- Cytogen GmbH garantiert keinen Erfolg der diagnostischen Testung allein durch die Verwendung von Cytogen Produkten.

#### CE Kennzeichnung

Mit Lymphogrow III Medium bietet Cytogen ein CE gekennzeichnetes Medium für die IVD, welches den Anforderungen der Richtlinie 98/79/EC, festgelegt durch die Europäische Kommission, entspricht.

#### HERSTELLER

CytoGen – Produkte für Medizin + Forschung GmbH  
Langgasse 73  
D-35576 Wetzlar  
Germany



Tel. +49 6441 679 55 88  
Fax +49 6441 679 55 89  
E-Mail: cytogen@eurobiz.de  
Web: www.cytogen.info

Vers. 1.4 | 27.07.2017