

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

Zweckbestimmung

Prenaplus Medium dient hauptsächlich der Kultivierung a) von Zellen aus Chorionzottenbiopsie- und Abortmaterial sowie auch b) von primären und passagierten Amnionzellen. Es ist für die humangenetische *in vitro* Diagnostik (IVD CE entsprechend MPG) bestimmt.

Zusammensetzung

Es ist als Komplettmedium zusammengesetzt aus Basalmedium, vorgetestetem FBS, Hormonen und Wachstumsfaktoren für den entsprechenden Zell- bzw. Gewebetyp, Phenolrot, NaHCO₃ als Puffer plus Gentamicin und L-Glutamin.

Haltbarkeit und Lagerung

Prenaplus Medium ist bei einer Lagerung ≤-18 °C für 18 Monate ab Herstellungsdatum haltbar. Aus Qualitäts- und Sterilitätsgründen ist die Verwendung von Prenaplus 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. Prenaplus nicht über dem auf dem Etikett angegebenen Verfalldatum verwenden.

Auftauen

Prenaplus Medium bei +2 °C bis +8 °C über Nacht auftauen. Ein Auftauen im Wasserbad bei 37°C wird nicht empfohlen. Vor Gebrauch Prenaplus 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% CO₂ Inkubator äquilibriert bis das Medium die normale Farbe Rot erreicht hat. Prenaplus 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.

Probenvorbereitung

Sowohl das Chorionzottenbiopsie- als auch das Abortmaterial muß von mütterlichen Material (Dezidua) und anderen Verunreinigungen (z.B. Blutkoagulate) separiert werden. Material mit sterilen Skalpell zerkleinern. Nun kann die Proben in einer Kulturflasche ausgestrichen werden. Alternativ nutzt man das Enzym Dispase oder Collagenase zur Mazeration für 10 Minuten bei adäquater Konzentration. Die Zellen werden mit Zugabe von 3 ml Prenaplus in einer „feuchten Kammer“ eine Stunde aufbewahrt, d.h. die Kulturflasche wird auf den Kopf gestellt und dann langsam und vorsichtig gewendet, damit sich dabei das Material nicht ablöst!

Standard Protokoll

Die unten beschriebene Methode ist eine Standardanleitung für den Einsatz von Prenaplus Medium in der Kultivierung von entsprechenden Gewebeproben. Selbstverständlich kann dieses hochwertige Medium in den eigenen Arbeitsablauf integriert werden. Es obliegt dem Anwender, ob das Protokoll vollständig oder nur teilweise in die eigenen Protokolle übernommen wird.

Ein optionales Protokoll kann zur Verfügung gestellt werden.

Flaschen-Methode

- Zellen durch Zentrifugation bei niedriger Geschwindigkeit aufkonzentrieren
- 90 – 95% des Überstandes abnehmen und Zellen im restlichen Überstand resuspendieren.
- Das Pellet mit vorgewärmtem Prenaplus auf mindestens 2 ml verdünnen um 2 ml pro Kulturflasche zu erhalten
- Bei +37 °C und 5% CO₂ im Inkubator bebrüten
- Am 5. Tag Wachstum überprüfen und das Medium durch frisches Prenaplus Medium ersetzen

- Verbrauchtes Medium bis zur Ernte regelmäßig austauschen
- Für optimale Resultate Medium am Tag vor der Ernte wechseln

in situ Methode

- Zellen durch Zentrifugation bei niedriger Geschwindigkeit aufkonzentrieren
- 90 – 95% des Überstandes abnehmen und Zellen im restlichen Überstand resuspendieren
- Zellsuspension mit vorgewärmtem Prenaplus Medium auf mindestens 2 ml verdünnen, um 0,5 ml Suspension pro Deckgläschen (Gesamtanzahl 4) zu erhalten
- Bei +37 °C und 5% CO₂ im Inkubator bebrüten
- Am zweiten Tag 2 ml Prenaplus zugeben
- Nach 4 – 5 Tagen Wachstum der Zellen kontrollieren
- Unmittelbar danach vorsichtig das gesamte Medium absaugen und durch 2 ml vorgewärmtes frisches Prenaplus Medium ersetzen
- Empfehlung: Medienwechsel alle 2 Tage
- Für optimale Resultate Medium am Tag vor der Ernte wechseln

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.
- Prenaplus Medium 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.
- **ACHTUNG:** Nicht für die therapeutische Anwendung bei Menschen oder Tieren geeignet. Eine Verwendung des Mediums anders als in der Zweckbestimmung beschrieben, kann gegen nationale Gesetze 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 Prenaplus 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 Prenaplus 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
 Nordwalder Str. 120
 48268 Greven
 Germany
 Tel. +49 2571 560180
 Fax +49 2571 9219118
 E-Mail: info@cytogen.net
 Web: www.cytogen.net

Version 1.5 | 01.08.2020

