

Fiche technique MILIEU DE SEPARATION DES LYMPHOCYTES $d = 1.078$



MILIEU DE SEPARATION DES LYMPHOCYTES $d = 1.078$

REF

CMSMSL01-0U
CMSMSL01-01
CMSMSL01-1A



Référence CMSMSL01 - v6.02 – Aout 2023



Fiche technique
Disponible sur www.eurobio-scientific.com

Fiche technique MILIEU DE SEPARATION DES LYMPHOCYTES d = 1.078

Table des matières

Table des matières	2
1. Informations générales	3
2. Destination du dispositif	3
3. Symboles.....	4
4. Conditionnement	5
5. Caractéristiques et Formulations	5
6. Conservation et stockage	5
7. Livraison.....	5
8. Matériel requis non fournis	5
9. Mises en garde et précautions	5
10. Protocole.....	6
11. Contrôle qualité.....	7
12. Elimination des déchets	7
13. Déclaration d'incident	7
14. Assistance technique	7
15. Bibliographie.....	8
Table of Contents	11
1. General information	12
2. Intended use.....	12
3. Symbols.....	13
4. Packaging.....	14
5. Characteristics	14
6. Conservation and storage	14
7. Shipping.....	14
8. Required material non provided	14
9. Warnings and precautions	14
10. Protocole.....	15
11. Quality control	16
12. Waste disposal	16
13. Incident report.....	16
14. Technical assistance	16
For product assistance, please contact our technical support	16
Eurobio Scientific customer service can be reached via e-mail at adv@eurobio-scientific.com or via phone at +33 (0)1.69.79.64.80	16
15. Bibliography.....	17

Fiche technique MILIEU DE SEPARATION DES LYMPHOCYTES $d = 1.078$

Fiche technique MILIEU DE SEPARATION DES LYMPHOCYTES d = 1.078

1. Informations générales

Le Milieu de Séparation des Lymphocytes (MSL), gradient associant Ficoll® et Diatrizoate ($d = 1,078 \pm 0,002$), permet la récupération par simple centrifugation, des lymphocytes contenus dans le sang. Après préparation du tampon de Diatrizoate et neutralisation par la soude, le Ficoll® est ajouté, le milieu étant alors stérilisé par filtration.

2. Destination du dispositif

Le Milieu de Séparation des Lymphocytes (MSL) est un produit destiné à des usages généraux de Laboratoire. Ce milieu commercialisé par Eurobio Scientific est notamment utilisé en amont de procédures d'examen de diagnostic *in vitro* sur des échantillons humains.

Le Milieu de Séparation des Lymphocytes (MSL) convient donc pour une utilisation dans les procédures de diagnostic *In Vitro*.

Le Milieu de Séparation des Lymphocytes (MSL) est un dispositif médical de diagnostic *In Vitro*, il ne peut être recyclé.

Le Milieu de Séparation des Lymphocytes (MSL) doit être utilisé par du personnel de laboratoire d'analyse de biologie médicale qualifié.

Fiche technique MILIEU DE SEPARATION DES LYMPHOCYTES d = 1.078

3. Symboles



Référence



Numéro de lot



Limite de température



Date d'expiration



Fabricant



Produit marqué CE



In vitro Diagnostic



Attention, lire la
notice d'utilisation



Consulter la notice
d'utilisation



Conserver à l'abri de
la lumière du soleil



Ne pas utiliser si
l'emballage est
endommagé

Fiche technique MILIEU DE SEPARATION DES LYMPHOCYTES d = 1.078

4. Conditionnement

Description	Cond.	Référence
Milieu de Séparation des Lymphocytes d = 1,078	100 ml	CMSMSL01-0U
Milieu de Séparation des Lymphocytes d = 1,078	500 ml	CMSMSL01-01
Milieu de Séparation des Lymphocytes d = 1,078 en flacon percutable	150 ml	CMSMSL01-1A

5. Caractéristiques et Formulations

Le Milieu de Séparation des Lymphocytes d = 1,078+/- 0,002 est un milieu dont l'état de stérilité est revendiqué.

Formulation :

Composants g/l	CMSMSL01
EDTA Na2	0.0530
ACIDE DIATRIZOIQUE	94.100
NaOH	5.8892
FICOLL 400®	56.000

6. Conservation et stockage

Le milieu de séparation des Lymphocytes d = 1,078 doit être conservé à +2°C/+30°C à l'obscurité jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette.

La durée de conservation après ouverture du dispositif est de 1 mois.

7. Livraison

La livraison peut être effectuée à température ambiante. En effet un transit temporaire à température ambiante n'altère pas les caractéristiques du produit.

8. Matériel requis non fournis

En fonction de l'application, du matériel non fourni peut-être requis (pipette, flasques, micropipettes...).

9. Mises en garde et précautions

Ne pas utiliser le produit si l'emballage individuel est endommagé.

Fiche technique MILIEU DE SEPARATION DES LYMPHOCYTES d = 1.078

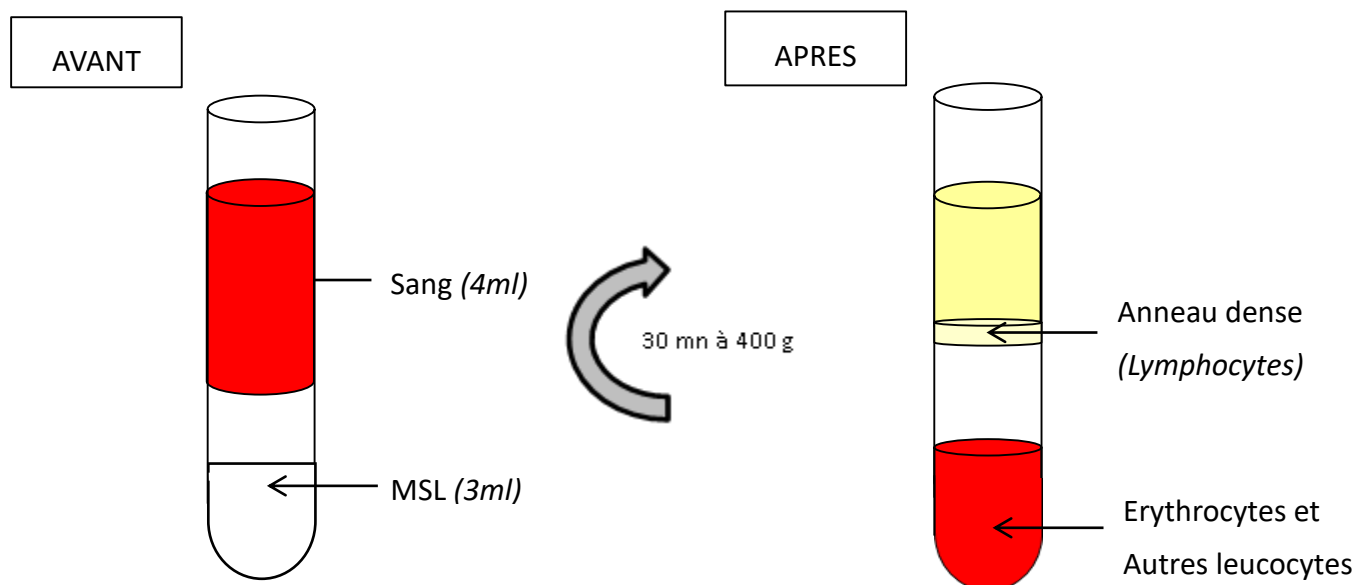
Le dispositif est à manipuler avec précaution par l'utilisateur afin de maintenir l'état microbiologiquement vérifié du produit.

10. Protocole

Le sang total doit être préalablement défibriné par agitation pendant quelques minutes (5 à 6 billes pour 5 à 8 ml de sang total) ou recueilli en présence d'héparine.

- Diluer l'échantillon de sang au demi avec du sérum physiologique.
- Dans un tube de 10 ml, déposer séquentiellement 3 ml de MSL puis 4 ml de sang, sans mélanger.
- Centrifuger à température ambiante pendant 30 à 40 minutes à 400g.
- Recueillir à l'aide d'une pipette Pasteur, la couche dense opalescente comme indiqué sur le schéma (les érythrocytes et les autres leucocytes sédimentent au fond du tube).
- Replacer la suspension lymphocytaire isolée dans un volume équivalent de solution saline de Hanks.
- Centrifuger à température ambiante pendant 10 minutes à 160g.
- Remettre le culot en suspension dans un volume de solution saline de Hanks équivalent au précédent.
- Centrifuger à température ambiante pendant 10 minutes à 160g.
- Conserver le culot lymphocytaire.

Remarque : Quelques granulocytes immatures peuvent accompagner les lymphocytes chez les patients urémiques ou sous traitement immunosuppresseur.



Fiche technique MILIEU DE SEPARATION DES LYMPHOCYTES d = 1.078

11. Contrôle qualité

Contrôles physico chimiques :

Le pH et l'osmolarité ainsi que la densité sont mesurés par des équipements et des étalons standards.

Contrôles microbiologiques :

Les contrôles de stérilité bactérienne et fongique sont réalisés selon le protocole. Les échantillons à tester sont préalablement incubés à deux températures (20°C et 35°C) pendant 14 jours. A la fin de la période d'incubation, une sous culture directe est réalisée.

Les milieux de cultures utilisés sont :

- pour germes aérobies BTCS
- pour germes anaérobies Thioglycolate

En parallèle, des contrôles sont ensemencés pour vérifier que les milieux sont en mesure de permettre la croissance d'un petit nombre d'organisme et qu'il n'y a pas d'effet inhibiteur du milieu. Les signes d'une éventuelle croissance bactérienne sont recherchés à intervalles réguliers.

Le taux d'endotoxines est mesuré selon les prescriptions de la Pharmacopée Européenne.

La qualité de la séparation est contrôlée à partir de sang de cheval.

12. Elimination des déchets

Eliminer tous les déchets conformément à la législation sur les DASRI.

13. Déclaration d'incident

Tout incident grave survenu en lien avec le dispositif fait l'objet d'une notification à EURO BIO et à l'autorité compétente de l'État membre dans lequel l'utilisateur et/ou le patient est établi.

14. Assistance technique

Pour obtenir une assistance sur nos produits, merci de contacter notre support technique.

Le service clients d'EURO BIO est joignable par voie électronique (mail), à l'adresse adv@eurobio-scientific.com ou par téléphone au +33 (0)1.69.79.64.80

Fiche technique MILIEU DE SEPARATION DES LYMPHOCYTES d = 1.078



7, avenue de Scandinavie
91940 Les Ulis
FRANCE

15. Bibliographie

- ❑ Balk, S.D., Lestourgeon, D. and Mitchell, R.S. 5-methyltetrahydrofolic acid, 5-formyltetrahydrofolic acid (folinic acid), and folie acid requirements of normal and Rous sarcoma virus-infected chicken fibroblasts. *Cancer Res.*, 1978, 38, 3966-3968.
- ❑ Carrel, A. and Burrows, M.T. Cultivation of adult tissues and organs outside of the body. *J. Am. Med. Ass.*, 1910, 55, 1379-1381.
- ❑ Eagle, H. The specific amino acid requirements of a human carcinoma cell (strain HeLa) in tissue culture. *J. Exp. Med.*, 1955, 102, 37-48.
- ❑ Eagle, H. The minimum vitamins requirements of the L and HeLa cells in tissue culture, the production of specific vitamin deficiencies and their cure. *J. Exp. Med.*, 1955, 102, 595-600.
- ❑ Eagle, H. Nutrition needs of mammalian cells in tissue culture. *Science*, 1955, 122, 501-504.
- ❑ Eagle, W.R. Production of malignancy in vitro-IV the mouse fibroblast cultures and changes seen in the living cells. *J. Nat. Cancer. Inst.*, 1943, 4, 165-212.
- ❑ Fischer, A., Astrup, P., Ehrens-Vård, G. and Ohlenschlager, V. Growth of animal tissue cells in artificial media. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1948, 67, 40-46.
- ❑ Gey, G.O. An improved technique for massive tissue culture. *Ai'n. J. Cancer*, 1933, 17, 752-756.
- ❑ Graham, A.F. and Siminovitch, L. Prolifération of monkey kidney cells in rotating cultures. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1955, 89, 326-327.
- ❑ Griffith, J.B. and Pirt, S.J. The uptake of amino acids by mouse cells (strain LS) during growth in batch culture and chemostat culture : the influence of cell growth rate. *Proc. Roy. Soc. Serie B*, 1967, 168, 421-438.
- ❑ Ham, R.G. Clonal growth of mammalian cells in chemically defined medium. *Proc Natl. Acad. Sci.*, 1965, 53, 288-293.
- ❑ Me Keehan, W.L., Mc Keehan, K.A., Hanunon, S.L. and Ham, R.G. Improved media for clonal growth of human diploid fibroblasts at low concentration of serum protein. *In vitro*, 1977, 13, 399-416.
- ❑ Monard; D., Solomon, F., Rentsch, M. and Gysin, R. Glia-induced morphological différentiation in neuroblastoma cells. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 1973, 70, 1894-1897.

Fiche technique MILIEU DE SEPARATION DES LYMPHOCYTES d = 1.078

- ❑ Morgan, J.F., Morton, H.J. and Parker, R.C. Nutrition of animal cells in tissue culture. I. Initial studies on a synthetic medium. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1950, 73, 1-8.
- ❑ Moscona, A. Cell suspensions from organ rudiments of chick embryos. Exp. Cell Res., 1952, 3, 535-539.
- ❑ Reitzer, J.L., Wice, B.M. and Kennell, D. Evidence that glutamine, not sugar, is a major energy source of cultured HeLa cells. J. Biol. Chem., 1979, 254, 2669-2676.
- ❑ Rous, P. and Jones, F.A. A method of obtaining suspensions of living cells from the fixed tissues and from the plating out of individual cells. J. Exp. Med. 1916, 23, 549-555.
- ❑ Waymouth, C. Osmolality of mammalian blood and media for culture of mammalian cells. In vitro, 1970, 6, 109-127.
- ❑ F. Devreker, K. Hardy, M. Van den Bergh, A.S. Vannin, S. Emiliani and Y. Englert Amino acids promote human blastocyst development in vitro. Human Reproduction Vol.16, No.4 pp. 749-756, 2006.
- ❑ Mitalipov SM1, White KL, Farrar VR, Morrey J, Reed WA. Development of nuclear transfer and parthenogenic rabbit embryos activated with inositol 1,4,5-Trisphosphate. Biol Reprod. 1999 Apr;60(4):821-7.



Lymphocytes separation medium d = 1.078

REF

CMSMSL01-0U
CMSMSL01-01
CMSMSL01-1A



CMSMSL01 – version 6.02 – August 2023



Instructions for use
Available on www.eurobio-scientific.com

Instructions for use Lymphocytes separation medium d = 1.078

Table of Contents

Table des matières	2
1. Informations générales	4
2. Destination du dispositif	4
3. Symboles.....	5
4. Conditionnement	6
5. Caractéristiques et Formulations	6
6. Conservation et stockage	6
7. Livraison	6
8. Matériel requis non fournis	6
9. Mises en garde et précautions	6
10. Protocole.....	7
11. Contrôle qualité.....	8
12. Elimination des déchets	8
13. Déclaration d'incident	8
14. Assistance technique	8
15. Bibliographie.....	9
Table of Contents	12
1. General information	13
2. Intended use.....	13
3. Symbols.....	14
4. Packaging.....	15
5. Characteristics	15
6. Conservation and storage	15
7. Shipping.....	15
8. Required material non provided	15
9. Warnings and precautions	15
10. Protocole.....	16
11. Quality control	17
12. Waste disposal	17
13. Incident report.....	17
14. Technical assistance	17
For product assistance, please contact our technical support	17
Eurobio Scientific customer service can be reached via e-mail at adv@eurobio-scientific.com or via phone at +33 (0)1.69.79.64.80	17
15. Bibliography.....	18

Instructions for use Lymphocytes separation medium

d = 1.078

1. General information

The Lymphocyte Separation Medium (LSM), a gradient combining Ficoll® and Diatrizoate (d = 1.078+/- 0.002), allows the recovery of lymphocytes contained in blood by simple centrifugation. After preparation of the Diatrizoate buffer and neutralization by caustic soda, Ficoll® is added, the medium is then sterilized by filtration.

2. Intended use

The Lymphocyte Separation Medium (LSM) is a product intended for general laboratory use. This medium commercialised by Eurobio Scientific is particularly used before in vitro diagnostic examination procedures on human samples.

The Lymphocyte Separation Medium (LSM) is therefore suitable for use In Vitro diagnostic procedures.

Lymphocyte Separation Medium (LSM) is a medical device for in vitro diagnostic procedures and cannot be recycled.

The Lymphocyte Separation Medium (LSM) must be used by qualified medical laboratory personnel.

Instructions for use Lymphocytes separation medium

d = 1.078

3. Symbols



Reference



Batch number



Temperature limit



Expiration date



Manufacturer



Date of manufacture



CE marked product



In vitro diagnostic medical device



Instructions for use



Warning, read the instructions for use



Do not use if the packaging is damaged



Keep out of direct sunlight

Instructions for use Lymphocytes separation medium d = 1.078

4. Packaging

Description	Packaging	Référence
Lymphocytes separation medium d = 1,078	100 ml	CMSMSL01-0U
Lymphocytes separation medium d = 1,078	500 ml	CMSMSL01-01
Lymphocytes separation medium d = 1,078 in pierceable flask	150 ml	CMSMSL01-1A

5. Characteristics

Lymphocytes separation medium d = 1,078+/- 0,002 is a medium whose sterile state is claimed.

Formulation :

Components g/l	CMSMSL01
EDTA Na2	0.0530
DIATRIZOIC ACID	94.100
NaOH	5.8892
FICOLL 400®	56.000

6. Conservation and storage

Store the Separation lymphocytes medium at +2°C/+30°C until the expiration date indicated on the label.

After opening the bottle, store the medium at à +2°C/+30°C for 1 month.

7. Shipping

The delivery can be made at room temperature. Indeed, a temporary transit at room temperature does not alter product characteristics.

8. Required material non provided

Depending on the application, materials not supplied may be required (pipets, flasks, micropipettes...).

9. Warnings and precautions

The device should be handled with care by the user in order to maintain the verified microbiological status of the product.

Instructions for use Lymphocytes separation medium

$d = 1.078$



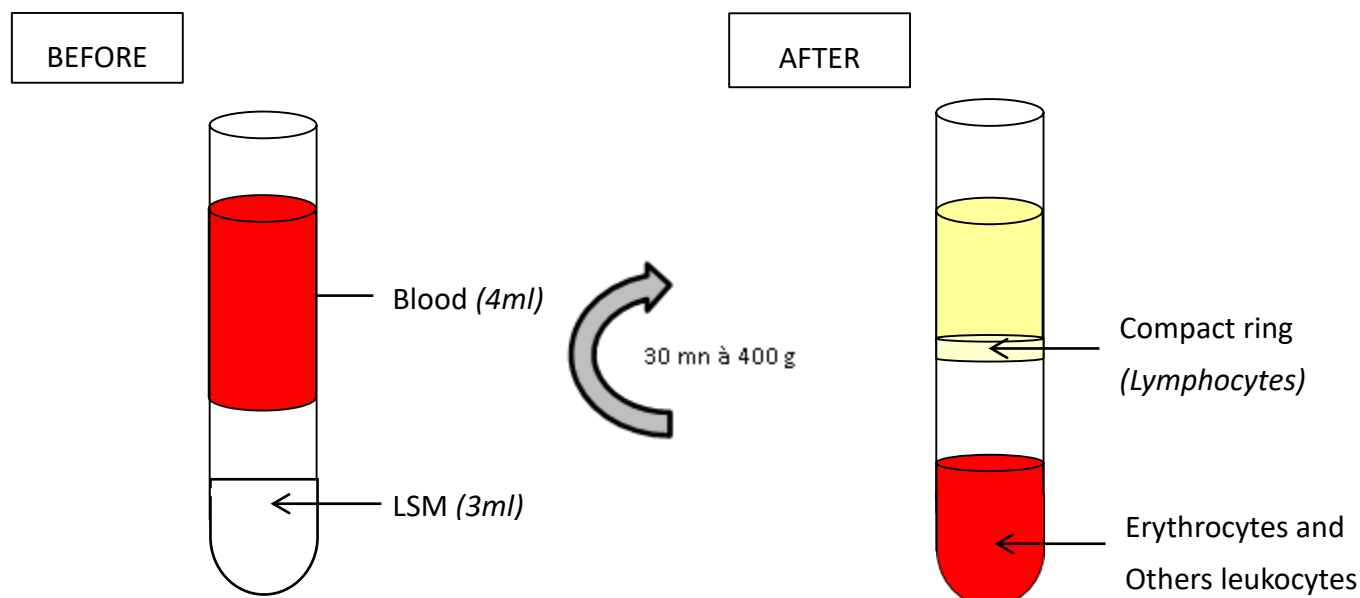
Do not use if the packaging is damaged.

10. Protocole

The whole blood must first be defibrinated by shaking it for a few minutes (5 to 6 beads for 5 to 8 ml of whole blood) or collected in the presence of heparin.

- Dilute the blood sample by half with saline.
- In a 10 ml tube, sequentially add 3 ml of MSL then 4 ml of blood, without mixing.
- Centrifuge at room temperature for 30 to 40 minutes at 400g.
- Using a Pasteur pipette, collect the dense opalescent layer as shown in the diagram (erythrocytes and other leukocytes sediment at the bottom of the tube).
- Replace the isolated lymphocyte suspension in an equivalent volume of Hanks' saline.
- Centrifuge at room temperature for 10 minutes at 160g.
- Resuspend the pellet in an equivalent volume of Hanks' saline.
- Centrifuge at room temperature for 10 minutes at 160g.
- Retain the lymphocyte pellet.

Note: Some immature granulocytes may accompany the lymphocytes in uremic patients or those on immunosuppressive therapy.



Instructions for use Lymphocytes separation medium

d = 1.078

11. Quality control

Physical and chemical controls:

pH and osmolarity as well as density are measured by standard equipment and calibrators.

Microbiological controls:

Bacterial and fungal sterility controls are performed according to the protocol. The samples to be tested are previously incubated at two temperatures (20°C and 35°C) for 14 days. At the end of the incubation period, a direct sub-culture is performed.

The culture media used are:

- for aerobic germs BTCS
- for anaerobic germs Thioglycolate

In parallel, controls are sown to check that the media are able to allow the growth of a small number of organisms and that there is no inhibiting effect from the medium. Signs of bacterial growth are checked at regular intervals.

The endotoxin level is measured according to the European Pharmacopoeia.

The quality of the separation is controlled using horse blood.

12. Waste disposal

Eliminate all waste according to local legislation related to waste from healthcare activities with risks of infection.

13. Incident report

Any serious incident occurring in connection with the device shall be notified to EUROBIO SCIENTIFIC and to the competent authority of the Member State in which the user and/or patient is established.

14. Technical assistance

For product assistance, please contact our technical support.

Eurobio Scientific customer service can be reached via e-mail at adv@eurobio-scientific.com or via phone at +33 (0)1.69.79.64.80

Instructions for use Lymphocytes separation medium

d = 1.078



7, avenue de Scandinavie
91940 Les Ulis
FRANCE

15. Bibliography

- ❑ Balk, S.D., Lestourgeon, D. and Mitchell, R.S. 5-methyltetrahydrofolic acid, 5-formyltetrahydrofolic acid (folinic acid), and folate acid requirements of normal and Rous sarcoma virus-infected chicken fibroblasts. *Cancer Res.*, 1978, 38, 3966-3968.
- ❑ Carrel, A. and Burrows, M.T. Cultivation of adult tissues and organs outside of the body. *J. Am. Med. Ass.*, 1910, 55, 1379-1381.
- ❑ Eagle, H. The specific amino acid requirements of a human carcinoma cell (strain HeLa) in tissue culture. *J. Exp. Med.*, 1955, 102, 37-48.
- ❑ Eagle, H. The minimum vitamins requirements of the L and HeLa cells in tissue culture, the production of specific vitamin deficiencies and their cure. *J. Exp. Med.*, 1955, 102, 595-600.
- ❑ Eagle, H. Nutrition needs of mammalian cells in tissue culture. *Science*, 1955, 122, 501-504.
- ❑ Eagle, W.R. Production of malignancy in vitro-IV the mouse fibroblast cultures and changes seen in the living cells. *J. Nat. Cancer. Inst.*, 1943, 4, 165-212.
- ❑ Fischer, A., Astrup, P., Ehrens-Vård, G. and Ohlenschlager, V. Growth of animal tissue cells in artificial media. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1948, 67, 40-46.
- ❑ Gey, G.O. An improved technique for massive tissue culture. *Am. J. Cancer*, 1933, 17, 752-756.
- ❑ Graham, A.F. and Siminovitch, L. Prolifération of monkey kidney cells in rotating cultures. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1955, 89, 326-327.
- ❑ Griffith, J.B. and Pirt, S.J. The uptake of amino acids by mouse cells (strain LS) during growth in batch culture and chemostat culture : the influence of cell growth rate. *Proc. Roy. Soc. Serie B*, 1967, 168, 421-438.
- ❑ Ham, R.G. Clonal growth of mammalian cells in chemically defined medium. *Proc Natl. Acad. Sci.*, 1965, 53, 288-293.
- ❑ McKeehan, W.L., McKeehan, K.A., Hanunon, S.L. and Ham, R.G. Improved media for clonal growth of human diploid fibroblasts at low concentration of serum protein. *In vitro*, 1977, 13, 399-416.
- ❑ Monard, D., Solomon, F., Rentsch, M. and Gysin, R. Glia-induced morphological differentiation in neuroblastoma cells. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 1973, 70, 1894-1897.

Instructions for use Lymphocytes separation medium

d = 1.078

- ❑ Morgan, J.F., Morton, H.J. and Parker, R.C. Nutrition of animal cells in tissue culture. I. Initial studies on a synthetic medium. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1950, 73, 1-8.
- ❑ Moscona, A. Cell suspensions from organ rudiments of chick embryos. Exp. Cell Res., 1952, 3, 535-539.
- ❑ Reitzer, J.L., Wice, B.M. and Kennell, D. Evidence that glutamine, not sugar, is a major energy source of cultured HeLa cells. J. Biol. Chem., 1979, 254, 2669-2676.
- ❑ Rous, P. and Jones, F.A. A method of obtaining suspensions of living cells from the fixed tissues and from the plating out of individual cells. J. Exp. Med. 1916, 23, 549-555.
- ❑ Waymouth, C. Osmolality of mammalian blood and media for culture of mammalian cells. In vitro, 1970, 6, 109-127.
- ❑ F. Devreker, K. Hardy, M. Van den Bergh, A.S. Vannin, S. Emiliani and Y. Englert Amino acids promote human blastocyst development in vitro. Human Reproduction Vol.16, No.4 pp. 749-756, 2006.
- ❑ Mitalipov SM1, White KL, Farrar VR, Morrey J, Reed WA. Development of nuclear transfer and parthenogenic rabbit embryos activated with inositol 1,4,5-Trisphosphate. Biol Reprod. 1999 Apr;60(4):821-7.