

FUJIFILM



Irvine Scientific

CHANG Medium D with Gentamicin For Human Amniotic Fluid Cells

Catalog No. 99404

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 diagnostic *in vitro*.

Pentru uz diagnostic *in vitro*.

För *in vitro*-diagnostik.

In vitro diagnostiliseks kasutamiseks.

In vitro diagnostikka alkalmazáshoz.

Skirta *in vitro* diagnostikai.

In vitro diagnostik kullanim için.

Na diagnostické použití *in vitro*.

За *in vitro* диагностична употреба.

Za upotrebu u *in vitro* dijagnostici.

Ghal użu dijanjostiku *in vitro*.

Za diagnostično uporabo *in vitro*.

Glossary of Symbols*:

	Catalog Number
	Lot Number
	Sterilized using aseptic processing techniques (filtration)
	Expiration: Year - Month - Day
	Caution, consult accompanying documents
	Consult instructions for use
	Storage Temperature at -10°C
	Do not re-use
	Do Not Re-Sterilize
	Do Not Use If Package Is Damaged
	Manufacturer
	CE Mark
	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.

ENGLISH

INDICATION FOR USE

CHANG Medium D with Gentamicin may be used for the following applications:

1. the primary culture of amniotic fluid cells
2. growing passaged amniotic fluid cells
3. the culture of bone marrow cells
4. solid amnion tissue from chorionic villi sampling.

This medium has been designed for use in CO₂ incubators (cultures equilibrated with 5%-8% CO₂ atmosphere).

The final pH must be 6.8-7.2.

DEVICE DESCRIPTION

CHANG Medium D was developed for the primary culture of human amniotic fluid cells for use in karyotyping and other antenatal genetic testing. This formula has been optimized for both flask and in situ methodologies. CHANG Medium D contains the antibiotic Gentamicin Sulfate (50 µg/mL)

COMPONENTS

<u>Amino Acids</u> Alanine Arginine Asparagine Aspartic Acid Cysteine Glutamic Acid Glutamine Glycine Histidine Isoleucine Leucine Lysine Methionine Phenylalanine Proline Serine Threonine Tryptophan Tyrosine Valine	Progesterone Testosterone Beta estradiol Hydrocortisone <u>Other</u> Biotin Ethyl alcohol Thyronine <u>Antioxidant</u> Thioctic acid <u>Nucleic acids</u> Deoxyadenosine Deoxycytidine Deoxyguanosine Adenosine Cytidine Guanosine Thymidine Uridine	<u>Vitamins and trace elements</u> Ascorbic acid Folic acid Nicotinamide Riboflavin Thiamine Pantothenic acid Cobalamin Pyridoxine <u>Salts & Ions</u> Sodium chloride Sodium selenite Calcium chloride Choline chloride Potassium chloride Magnesium sulfate Sodium phosphate <u>Buffer</u> Sodium bicarbonate
<u>Proteins</u> <u>Hormones and Growth Factors</u> Fetal bovine serum (FBS) Bovine calf serum Fibroblast growth factor (FGF) Insulin	<u>Energy Substrates</u> <u>Glucose</u> Pyruvate Inositol <u>pH Indicator</u> Phenol red	<u>Antibiotic</u> Gentamicin Sulfate <u>Water</u> WFI Quality

QUALITY ASSURANCE

STERILITY
Serum used in the production of CHANG Medium D has been tested for viral contamination per CFR Title 9 Part 113.53. It has also been screened for mycoplasma. CHANG Medium D is sterilized by filtration through a 0.1 micron filter. Samples of CHANG Medium D are tested for possible bacteriological contamination following the sterility testing protocol described in the current USP Sterility test <71>.

PREPARATION FOR USE

1. Thaw CHANG Medium D rapidly by swirling bottle in a 37°C water bath.
2. CHANG Medium D contains the antibiotic Gentamicin Sulfate (50 µg/mL). Additional antibiotics may be added if desired.

ALIQOTING CHANG MEDIUM D

1. Thaw CHANG Medium D according to instructions.
2. Distribute aseptically into convenient sized aliquots and refreeze.
3. Thaw aliquots in 37°C water bath when ready to use.

DIRECTIONS FOR USE

Use of CHANG Medium D for Primary Cultures: *in situ* Methodologies

1. Centrifuge amniotic fluid at low speed to concentrate the cells.
2. Resuspend the cell pellet in a small volume of the patient's own amniotic fluid. For example, aspirate the supernate of 10 mL of spun amniotic fluid to 0.5 mL above the cell pellet and resuspend. Add sufficient CHANG Medium D to the concentrated cell suspension to allow for final plating volume of 0.5 mL per cover slip (total of 4 coverslips) or 2 mL per flaskette.

3. Incubate cultures undisturbed at 37°C 5%-8% CO₂ atmosphere.
4. Flood cultures on day 2 by adding 2 mL of CHANG Medium D.
5. After 4 to 5 days, the cultures should be checked for growth. Cultures should be fed once growth has been observed. Feed cultures by removing all of the culture supernatant and replacing with 2 mL fresh CHANG Medium D. It is recommended that cultures be fed every 2 days thereafter.
6. Check cultures for growth on/or after day 5, and harvest when sufficient colonies are observed.
7. Best results are obtained when the cultures are fed with CHANG Medium D the day before the harvest.

Use of CHANG Medium D for Primary Cultures: Flask Methodologies

1. Centrifuge amniotic fluid at low speed to concentrate the cells.
2. Resuspend the cell pellet in a small volume of the patient's own amniotic fluid. For example, aspirate the supernate of 10 mL of spun amniotic fluid to 1 mL above the cell pellet and resuspend. Add 4 mL of CHANG Medium D for a total volume of 5 mL per flask.
3. Incubate cultures undisturbed at 37°C 5%-8% CO₂ atmosphere.
4. Check for growth on day 5. Change medium with fresh CHANG Medium D and harvest if sufficient cell growth is observed.
5. Check cultures for growth and completely change medium every day thereafter until sufficient colonies are observed and are ready to harvest.
6. Best results are obtained when the cultures are fed with CHANG Medium D the day before the harvest.

Use of CHANG Medium D for Growing Passaged Amniotic Fluid Cells:

To passage the cells, treat the cultures with trypsin (or pronase, etc.) as you would normally do when cells are grown in conventional medium. However, protease treatment should be carefully monitored. Amniotic fluid cells grown in CHANG Medium D tend to be more sensitive to protease treatment than amniotic fluid cells grown in conventional medium. It may be necessary to modify your protocol to take this into account.

The pH of the medium used to feed the cultures must be between 6.8-7.2 (i.e. the medium must be slightly yellowish salmon color). pH can easily be adjusted by placing the medium in a 5%-8% CO₂ incubator with the cap slightly loosened for about 30 minutes.

Note: Calcium Oxalate crystals commonly form in CHANG Medium D. The presence of these crystals has not been shown to cause any detrimental effect on product performance.

CHANG Medium D contains the antibiotic Gentamicin Sulfate. Appropriate precautions should be taken to ensure that the patient is not sensitized to this antibiotic.

STORAGE AND STABILITY

Store CHANG Medium D frozen at -10°C. Unused CHANG Medium D can be refrozen or stored at 2°C to 8°C.

Protect from fluorescent light.

See bottle label for specific expiration date. CHANG Medium D may be refrozen a maximum of 2 times and stored thawed at 2°C to 8°C for 14 days without affecting its function. Storage for longer than 14 days is not recommended.

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.

Do not use any bottle in which the sterile packaging has been compromised.

Do not use CHANG Medium D beyond the expiration date indicated on the label.

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

© 2019 FUJIFILM Irvine Scientific, Inc. All rights reserved. The FUJIFILM Irvine Scientific logo and CHANG Medium are trademarks of FUJIFILM Irvine Scientific, Inc. in various jurisdictions. PN 40791 Rev.6

INDIKATIONEN

CHANG Medium D mit Gentamicin kann für die folgenden Anwendungen verwendet werden:

1. Primärkultur von Fruchtwasserzellen
2. Wachsende passagierete Fruchtwasserzellen
3. die Kultur von Knochenmarkzellen
4. festes Amniongewebe aus einer Chorionzottenbiopsie.

Dieses Medium wurde für die Verwendung in CO₂-Inkubatoren entwickelt (Kulturen, die mit 5–8%iger CO₂-Atmosphäre äquilibriert werden).

Der endgültige pH-Wert muss zwischen 6,8 und 7,2 liegen.

PRODUKTBESCHREIBUNG

Das CHANG Medium D wurde für die Primärkultur von menschlichen Fruchtwasserzellen zur Verwendung bei der Karyotypisierung und für andere pränatale genetische Tests entwickelt. Diese Zusammensetzung wurde sowohl für Flaschen- als auch In-situ-Methoden optimiert. CHANG Medium D enthält das Antibiotikum Gentamicinsulfat (50 µg/ml).

INHALTSSTOFFE

<u>Aminosäuren</u>	Insulin	<u>Vitamine und Spurenelemente</u>
Alanin	Progesteron	Ascorbinsäure
Arginin	Testosteron	Folsäure
Asparagin	Beta-Estradiol	Nikotinamid
Asparaginsäure	Hydrokortison	Riboflavin
Cystein		Thiamin
Glutaminsäure	<u>Andere</u>	Pantothensäure
Glutamin	Biotin	Cobalamin
Glycin	Ethylalkohol	Pyridoxin
Histidin	Thyronin	
Isoleucin		
Leucin	<u>Antioxidans</u>	<u>Salze und Ionen</u>
Lysin	Thioctansäure	Natriumchlorid
Methionin		Natriumselenit
Phenylalanin	<u>Nukleinsäuren</u>	Calciumchlorid
Prolin	Desoxyadenosin	Cholinchlorid
Serin	Desoxycytidin	Kaliumchlorid
Threonin	Desoxyguanosin	Magnesiumsulfat
Tryptophan	Adenosin	Natriumphosphat
Tyrosin	Cytidin	
Valin	Guanosin	<u>Puffer</u>
	Thymidin	Natriumbicarbonat
	Uridin	
<u>Proteine</u>		<u>Antibiotikum</u>
<u>Hormone und Wachstumsfaktoren</u>	<u>Energiesubstrate</u>	Gentamicinsulfat
Fetales Kälberserum (FBS)	<u>Glukose</u>	
Kälberserum vom Rind	Pyruvat	<u>Wasser</u>
Fibroblastenwachstumsfaktor	Inositol	Wasser für Injektionszwecke (WFI)
	<u>pH-Indikator</u>	
	Phenolrot	

QUALITÄTSSICHERUNG

STERILITÄT

Das bei der Produktion des CHANG Medium D verwendete Serum wurde auf virale Kontamination gemäß CFR Titel 9, Teil 113.53, getestet. Es wurde außerdem auf Mykoplasma überprüft. Das CHANG Medium D wurde durch Filtration durch einen 0,1-Mikron-Filter sterilisiert. Es wurden Proben des CHANG Medium D auf mögliche bakterielle Kontamination getestet. Dabei wurde das im aktuellen USP-Sterilitätstest <71> beschriebene Sterilitätstestprotokoll befolgt.

VORBEREITUNG

1. Das CHANG Medium D schnell auftauen, dazu das Fläschchen in einem 37 °C warmen Wasserbad schwenken.
2. CHANG Medium D enthält das Antibiotikum Gentamicinsulfat (50 µg/ml). Bei Bedarf können zusätzliche Antibiotika hinzugefügt werden.

ALIQUOTIEREN DES CHANG MEDIUM D

1. Das CHANG Medium D gemäß den Anweisungen auftauen.
2. Mit aseptischen Techniken in handliche Aliquote verteilen und erneut einfrieren.
3. Die Aliquote, sobald benötigt, in einem 37 °C warmen Wasserbad auftauen.

GEBRAUCHSANWEISUNG

Verwendung von CHANG Medium D für Primärkulturen: *In-situ*-Methoden

1. Das Fruchtwasser bei geringer Geschwindigkeit zentrifugieren, um die Zellen zu konzentrieren.

2. Das Zellpellet in einer kleinen Menge Fruchtwasser derselben Patientin resuspendieren. Beispielsweise den Überstand von 10 ml des zentrifugierten Fruchtwassers zu 0,5 ml über dem Zellpellet absaugen und resuspendieren. Ausreichend CHANG Medium D in die konzentrierte Zellsuspension geben, um das endgültige Überzugvolumen von 0,5 ml pro Deckglas (insgesamt 4 Deckgläser) oder 2 ml pro Fläschchen zu erreichen.
3. Die Kulturen ungestört bei 37 °C in einer 5–8%igen CO₂-Atmosphäre inkubieren.
4. Die Kulturen an Tag 2 überspülen, indem 2 ml CHANG Medium D zugegeben werden.
5. Nach 4 bis 5 Tagen sollten die Kulturen auf Wachstum überprüft werden. Die Kulturen sollten genährt werden, sobald ein Wachstum festgestellt wurde. Die Kulturen nähren, indem Kulturüberstand entfernt wird und stattdessen 2 ml frisches CHANG Medium D zugegeben werden. Es wird empfohlen, Kulturen danach alle 2 Tage zu nähren.
6. An/oder nach Tag 5 die Kulturen auf Wachstum prüfen und entnehmen, wenn ausreichend Kolonien vorhanden sind.
7. Die besten Ergebnisse werden erreicht, wenn die Kulturen am Tag vor der Entnahme mit CHANG Medium D genährt werden.

Verwendung von CHANG Medium D für Primärkulturen: Flaschen-Methoden

1. Das Fruchtwasser bei geringer Geschwindigkeit zentrifugieren, um die Zellen zu konzentrieren.
2. Das Zellpellet in einer kleinen Menge Fruchtwasser derselben Patientin resuspendieren. Beispielsweise den Überstand von 10 ml des zentrifugierten Fruchtwassers zu 1 ml über dem Zellpellet absaugen und resuspendieren. 4 ml CHANG Medium D für ein Gesamtvolumen von 5 ml in die Flasche geben.
3. Die Kulturen ungestört bei 37 °C in einer 5–8%igen CO₂-Atmosphäre inkubieren.
4. An Tag 5 auf Wachstum prüfen. Das Medium durch frisches CHANG Medium D ersetzen und die Kulturen entnehmen, wenn ausreichend Zellwachstum festgestellt wird.
5. Die Kulturen auf Wachstum prüfen und danach jeden Tag das Medium auswechseln, bis ausreichend Kolonien vorhanden sind und entnommen werden können.
6. Die besten Ergebnisse werden erreicht, wenn die Kulturen am Tag vor der Entnahme mit CHANG Medium D genährt werden.

Verwendung von CHANG Medium D für wachsende passagierete Fruchtwasserzellen:

Um die Zellen zu passagieren, die Kulturen mit Trypsin (oder Pronase usw.) behandeln, so wie es üblich ist, wenn Zellen in einem konventionellen Medium kultiviert werden. Eine Behandlung mit Protease sollte allerdings sorgfältig überwacht werden. In CHANG Medium D kultivierte Fruchtwasserzellen neigen dazu, empfindlicher auf eine Protease-Behandlung zu reagieren als in konventionellem Medium kultivierte Fruchtwasserzellen. Das Protokoll muss ggf. geändert werden, um dies zu berücksichtigen.

Der pH-Wert des Mediums, das als Nährmedium der Kulturen dient, muss zwischen 6,8 und 7,2 liegen (d. h. das Medium muss leicht gelblich-lachsfarben sein). Der pH-Wert kann leicht angepasst werden, indem das Medium für ungefähr 30 Minuten in einen 5–8%igen CO₂-Inkubator mit leicht gelöster Kappe gestellt wird.

Hinweis: Es bilden sich häufig Calciumoxalatkristalle im CHANG Medium D. Es gibt keine Hinweise, dass die Anwesenheit dieser Kristalle die Produktleistung beeinträchtigt.

CHANG Medium D enthält das Antibiotikum Gentamicinsulfat. Es ist anhand angemessener Vorsichtsmaßnahmen sicherzustellen, dass der Patient keine Sensitivität gegenüber diesem Antibiotikum aufweist.

LAGERUNG UND STABILITÄT

Das CHANG Medium D tiefgekühlt bei -10 °C lagern. Nicht verwendetes CHANG Medium D kann erneut eingefroren oder bei 2 °C bis 8 °C gelagert werden.

Keinem Fluoreszenzlicht aussetzen.

Das spezifische Verfallsdatum auf dem Etikett der Flasche beachten. CHANG Medium D kann höchstens 2-mal erneut eingefroren und aufgetaut für 14 Tage bei 2 °C bis 8 °C gelagert werden, ohne dass seine Funktion beeinträchtigt wird. Eine Lagerung für mehr als 14 Tage wird nicht empfohlen.

VORSICHTSMASSNAHMEN UND WARNHINWEISE

Das Produkt ist für den Gebrauch durch Personal vorgesehen, das in Verfahren geschult ist, die den für das Produkt vorgesehenen Anwendungsbereich umfassen.

Keine Flaschen verwenden, deren Sterilverpackung beschädigt wurde.

CHANG Medium D nicht nach dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum verwenden.

ITALIANO

INDICAZIONI PER L'USO

CHANG Medium D con gentamicina può essere usato per le seguenti applicazioni:

1. colture primarie di cellule di liquido amniotico;
2. colture secondarie di cellule di liquido amniotico;
3. colture di cellule di midollo osseo;
4. tessuto amniotico solido da campionamento di villi corionici.

Questo terreno può essere usato in incubatori con CO₂ (colture equilibrate con atmosfera al 5-8% di CO₂).

Il pH finale deve essere compreso fra 6,8 e 7,2.

DESCRIZIONE DEL DISPOSITIVO

CHANG Medium D è stato sviluppato per colture primarie di cellule di liquido amniotico umano per la determinazione del cariotipo e altri test genetici prenatali. Questa formula è stata ottimizzata per metodologie sia in fiasca che in situ. CHANG Medium D contiene l'antibiotico gentamicina solfato (50 µg/ml).

COMPONENTI

<u>Aminoacidi</u>	<u>Altro</u>	Acido pantotenico
Alanina	Biotina	Cobalamina
Arginina	Alcol etilico	Piridossina
Asparagina	Tironina	
Acido aspartico		<u>Sali e ioni</u>
Cisteina	<u>Antiossidante</u>	Cloruro di sodio
Acido glutammico	Acido tiotico	Selenito di sodio
Glutammina		Cloruro di calcio
Glicina	<u>Acidi nucleici</u>	Cloruro di colina
Istidina	Deossiadenosina	Cloruro
Isoleucina	Deossicitidina	di potassio
Leucina	Deossiguanosina	Solfato
Lisina	Adenosina	di magnesio
Metionina	Citidina	Fosfato di sodio
Fenilalanina	Guanosina	
Prolina	Timidina	<u>Tampone</u>
Serina	Uridina	Bicarbonato
Treonina		di sodio
Triptofano	<u>Substrati</u>	
Tirosina	<u>energetici</u>	<u>Antibiotico</u>
Valina	<u>Glucosio</u>	Gentamicina
	Piruvato	solfato
	Inositolio	
<u>Proteine, ormoni</u> <u>e fattori di crescita</u>		<u>Acqua</u>
Siero bovino fetale	<u>Indicatore di pH</u>	Qualità WFI
Siero di vitello	Rosso fenolo	(acqua per iniezioni)
Fattore di crescita dei fibroblasti	<u>Vitamine ed</u>	
Insulina	<u>elementi in tracce</u>	
Progesterone	Acido ascorbico	
Testosterone	Acido folico	
Beta estradiolo	Nicotinamide	
Idrocortisone	Riboflavina	
	Tiamina	

GARANZIA DI QUALITÀ

STERILITÀ

Il siero usato per la produzione di CHANG Medium D è stato testato per escludere contaminazione virale seguendo la procedura CFR Titolo 9 Parte 113.53. È stato anche testato per determinare eventuali contaminazioni da micoplasma. CHANG Medium D è stato sterilizzato per filtrazione mediante filtro da 0,1 micron. Campioni di CHANG Medium D sono stati testati per escludere eventuale contaminazione batteriologica seguendo il protocollo delle prove di sterilità descritto nel corrente test di sterilità USP <71>.

PREPARAZIONE PER L'USO

1. Scongellare rapidamente CHANG Medium D agitando il flacone in un bagno d'acqua a 37 °C.
2. CHANG Medium D contiene l'antibiotico gentamicina solfato (50 µg/ml). È possibile aggiungere ulteriori antibiotici, se lo si ritiene necessario.

SUDDIVISIONE DI CHANG MEDIUM D IN ALIQUOTE

1. Scongellare CHANG Medium D seguendo le istruzioni.
2. Distribuire in condizioni asettiche in aliquote di dimensioni appropriate e ricongelare.
3. Scongellare le aliquote in bagno d'acqua a 37 °C quando si è pronti a usarle.

ISTRUZIONI PER L'USO

Uso di CHANG Medium D per colture primarie Metodologie *in situ*

1. Centrifugare il liquido amniotico a bassa velocità per concentrare le cellule.
2. Risospendere il pellet cellulare in una piccola quantità di liquido amniotico della paziente. Ad esempio, aspirare il surnatante di 10 ml di liquido amniotico centrifugato fino a 0,5 ml sopra il pellet cellulare e risospendere. Aggiungere alla sospensione di cellule concentrata una quantità di CHANG Medium D sufficiente a ottenere un volume finale nella piastra di 0,5 ml per vetrino coprioggetti (totale di 4 vetrini coprioggetti) o 2 ml per minifiasca.
3. Incubare le colture indisturbate a 37 °C in atmosfera al 5-8% di CO₂.
4. Al giorno 2 aggiungere alle colture 2 ml di CHANG Medium D.
5. Dopo 4-5 giorni, verificare la crescita delle colture e arricchirle non appena si osserva una crescita. Arricchire le colture rimuovendo tutto il surnatante e sostituendolo con 2 ml di CHANG Medium D fresco. Successivamente, si raccomanda di arricchire le colture ogni 2 giorni.
6. Controllare la crescita delle colture a partire dal giorno 5 e raccogliere quando si osservano sufficienti colonie.
7. I risultati migliori si ottengono quando le colture sono arricchite con CHANG Medium D il giorno prima della raccolta.

Uso di CHANG Medium D per colture primarie: Metodologie in fiasca

1. Centrifugare il liquido amniotico a bassa velocità per concentrare le cellule.
2. Risospendere il pellet cellulare in una piccola quantità di liquido amniotico della paziente. Ad esempio, aspirare il surnatante di 10 ml di liquido amniotico centrifugato fino a 1 ml sopra il pellet cellulare e risospendere. Aggiungere 4 ml di CHANG Medium D per raggiungere un volume totale di 5 ml per fiasca.
3. Incubare le colture indisturbate a 37 °C in atmosfera al 5-8% di CO₂.
4. Verificare la crescita al giorno 5. Sostituire il terreno con CHANG Medium D fresco e raccogliere se si osserva una crescita cellulare sufficiente.
5. Verificare la crescita delle colture e successivamente sostituire completamente il terreno ogni giorno finché non si osservano colonie sufficienti e pronte per la raccolta.
6. I risultati migliori si ottengono quando le colture sono arricchite con CHANG Medium D il giorno prima della raccolta.

Uso di CHANG Medium D per colture secondarie di liquido amniotico:

Per eseguire colture cellulari secondarie, trattare con tripsina (o pronase ecc.) come nel caso di cellule in coltura in terreno convenzionale. In ogni caso, il trattamento con proteasi deve essere monitorato accuratamente. Le cellule di liquido amniotico coltivate in CHANG Medium D sono generalmente più sensibili al trattamento con proteasi di quelle coltivate in terreno convenzionale. In ragione di ciò, potrebbe essere necessario modificare il protocollo.

Il pH del terreno usato per arricchire le colture deve essere compreso tra 6,8 e 7,2 (cioè, il terreno deve essere di colore salmone leggermente tendente al giallo). Il pH può essere facilmente regolato ponendo il terreno in un incubatore con CO₂ al 5-8% con il tappo leggermente svitato per circa 30 minuti.

Nota: la formazione di cristalli di ossalato di calcio in CHANG Medium D è un fenomeno normale. La presenza di questi cristalli non ha evidenziato effetti negativi sulle prestazioni del prodotto.

CHANG Medium D contiene l'antibiotico gentamicina solfato. Adottare le opportune precauzioni per assicurarsi che la paziente non presenti sensibilità a questo antibiotico.

CONSERVAZIONE E STABILITÀ

Conservare CHANG Medium D congelato a -10 °C. Il prodotto non utilizzato può essere ricongelato o conservato a 2-8 °C.

Proteggere da luce fluorescente.

La data di scadenza specifica è indicata sull'etichetta del flacone. CHANG Medium D può essere ricongelato non oltre due volte e conservato scongelato a 2-8 °C per 14 giorni senza comprometterne le prestazioni. Si raccomanda di non conservare per oltre 14 giorni.

PRECAUZIONI E AVVERTENZE

Questo prodotto è destinato all'uso da parte di personale addestrato nelle procedure che comprendono l'applicazione prevista del prodotto stesso.

Non usare flaconi la cui confezione sterile sia stata compromessa.

Non utilizzare CHANG Medium D dopo la data di scadenza indicata sull'etichetta.

ESPAÑOL

INDICACIÓN DE USO

El CHANG Medium D con gentamicina se puede usar para estas aplicaciones:

1. el cultivo primario de células de líquido amniótico
2. expansión de células de líquido amniótico subcultivadas
3. cultivo de células de la médula ósea
4. tejido amniótico sólido (muestreo de vellosidades coriónicas).

Este medio se ha diseñado para su uso en incubadoras de CO₂ (cultivos equilibrados en una atmósfera con 5-8 % de CO₂).

El pH final debe ser de 6,8-7,2.

DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO

El CHANG Medium D se desarrolló para el cultivo primario de células de líquido amniótico humano que se utilizan en el cariotipado y otras pruebas genéticas prenatales. Esta fórmula se ha optimizado para los métodos de frascos e *in situ*. El CHANG Medium D contiene el antibiótico sulfato de gentamicina (50 µg/ml).

COMPONENTES

<u>Aminoácidos</u>	Insulina	<u>Vitaminas</u>
Alanina	Progesterona	y <u>oligoelementos</u>
Arginina	Testosterona	Ácido ascórbico
Asparagina	Beta-estradiol	Ácido fólico
Ácido aspártico	Hidrocortisona	Nicotinamida
Cisteína		Riboflavina
Ácido glutámico	<u>Otros</u>	Tiamina
Glutamina	Biotina	Ácido pantoténico
Glicina	Alcohol etílico	Cobalamina
Histidina	Tironina	Piridoxina
Isoleucina		
Leucina	<u>Antioxidante</u>	<u>Sales e iones</u>
Lisina	Ácido tióctico	Cloruro sódico
Metionina		Selenito sódico
Fenilalanina	<u>Ácidos nucleicos</u>	Cloruro cálcico
Prolina	Desoxiadenosina	Cloruro de colina
Serina	Desoxicitidina	Cloruro potásico
Treonina	Desoxiguanosina	Sulfato magnésico
Triptófano	Adenosina	Fosfato sódico
Tirosina	Citidina	
Valina	Guanosina	<u>Sistemas tampón</u>
	Timidina	Bicarbonato sódico
	Uridina	
<u>Proteínas,</u>		
<u>hormonas</u>		
y <u>factores</u>	<u>Sustratos</u>	<u>Antibiótico</u>
<u>de crecimiento</u>	<u>energéticos</u>	Sulfato de gentamicina
Suero bovino	<u>Glucosa</u>	
fetal (FBS)	Piruvato	
Suero bovino	Inositol	<u>Agua</u>
de ternera		Calidad de agua
Factor de	<u>Indicador del pH</u>	para inyectables
crecimiento	Rojo de fenol	
fibroblástico (FGF)		

GARANTÍA DE CALIDAD

ESTERILIDAD

El suero utilizado en la producción del CHANG Medium D se ha sometido a análisis de la contaminación viral de acuerdo con el título 9 del CFR, parte 113.53. Asimismo, se ha cribado la contaminación por micoplasmas. El CHANG Medium D se esteriliza por filtración a través de un filtro de 0,1 µm. Se analizan muestras del CHANG Medium D para detectar la posible contaminación bacteriana según el protocolo analítico de esterilidad descrito en el vigente ensayo de esterilidad <71> de la USP.

PREPARACIÓN PARA EL USO

1. Descongelar rápidamente el CHANG Medium D mediante balanceo del frasco en un baño de agua a 37 °C.
2. El CHANG Medium D contiene el antibiótico sulfato de gentamicina (50 µg/ml). Se pueden añadir antibióticos si se desea.

DIVIDIR EN ALÍCUOTAS EL CHANG MEDIUM D

1. Descongelar el CHANG Medium D según las instrucciones.
2. Repartir en alícuotas de tamaño adecuado en condiciones asépticas y volver a congelar.
3. Descongelar las alícuotas en un baño de agua a 37 °C cuando estén listas para su uso.

INSTRUCCIONES DE USO

Uso del CHANG Medium D para cultivos primarios: Métodos *in situ*

1. Centrifugar el líquido amniótico a baja velocidad para concentrar las células.
2. Resuspender el sedimento celular en un pequeño volumen del propio líquido amniótico de la paciente. Por ejemplo, aspirar el sobrenadante de 10 ml de líquido amniótico centrifugado hasta 0,5 ml por encima del sedimento celular y resuspender. Añadir suficiente CHANG Medium D a la suspensión celular concentrada para disponer de un volumen final de siembra de 0,5 ml por cubreobjetos (en total, 4 cubreobjetos) o 2 ml por cada frasquito.
3. Incubar los cultivos sin perturbaciones a 37 °C en una atmósfera con 5-8 % de CO₂.
4. Inundar los cultivos el día 2 añadiendo 2 ml del CHANG Medium D.
5. Al cabo de 4 a 5 días, se revisará el crecimiento de los cultivos. Los cultivos se alimentarán una vez que se haya observado su crecimiento. Alimentar los cultivos aspirando todo el sobrenadante del cultivo y sustituyéndolo por 2 ml del CHANG Medium D. Se recomienda alimentar los cultivos cada 2 días a partir de ese momento.
6. Comprobar el crecimiento de los cultivos a partir del día 5 y cosecharlos cuando se observen suficientes colonias.
7. Los mejores resultados se obtienen cuando los cultivos se alimentan con el CHANG Medium D el día antes de la cosecha.

Uso del CHANG Medium D para cultivos primarios: Métodos de frasco

1. Centrifugar el líquido amniótico a baja velocidad para concentrar las células.
2. Resuspender el sedimento celular en un pequeño volumen del propio líquido amniótico de la paciente. Por ejemplo, aspirar el sobrenadante de 10 ml del líquido amniótico centrifugado hasta 1 ml por encima del sedimento celular y resuspender. Añadir 4 ml del CHANG Medium D hasta un volumen total de 5 ml por frasco.
3. Incubar los cultivos sin perturbaciones a 37 °C en una atmósfera con 5-8 % de CO₂.
4. Comprobar el crecimiento en el día 5. Cambiar el medio por el CHANG Medium D fresco y cosechar si se observa un crecimiento celular suficiente.
5. Comprobar el crecimiento de los cultivos y luego renovar por completo el medio cada día hasta que las colonias alcancen un número suficiente y estén listas para la cosecha.
6. Los mejores resultados se obtienen cuando los cultivos se alimentan con el CHANG Medium D el día antes de la cosecha.

Uso del CHANG Medium D para la expansión de células de líquido amniótico subcultivadas:

Para subcultivar las células, tratar los cultivos con tripsina (o pronasa, etc.) como lo haría si las células crecieran en un medio convencional. De cualquier manera, el tratamiento con proteasa debe vigilarse con cuidado. Las células de líquido amniótico expandidas en el CHANG Medium D tienden a ser más sensibles al tratamiento con proteasa que las células de líquido amniótico cultivadas en un medio convencional. Es posible que deba modificar el protocolo por esta razón.

El pH del medio utilizado para alimentar los cultivos debe situarse entre 6,8 y 7,2 (es decir, el medio debe tener un color salmón amarillento). El pH se puede ajustar con facilidad colocando el medio (con el tapón ligeramente aflojado) en una incubadora con 5-8 % de CO₂ durante unos 30 minutos.

Nota: En el CHANG Medium D se forman con frecuencia cristales de oxalato cálcico. No se ha demostrado que la presencia de estos cristales merme el rendimiento del producto.

El CHANG Medium D contiene el antibiótico sulfato de gentamicina. Se deben adoptar las medidas pertinentes para asegurarse de que la paciente no se encuentre sensibilizada a este antibiótico.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Conservar el CHANG Medium D congelado a -10 °C. El CHANG Medium D no utilizado se puede volver a congelar o conservar a 2-8 °C.

Proteger de la luz fluorescente.

Consultar la fecha de caducidad concreta en la etiqueta del frasco. El CHANG Medium D se puede volver a congelar 2 veces como máximo y conservar descongelado a 2-8 °C durante 14 días sin que resulte afectada su función. No se recomienda su almacenamiento durante más de 14 días.

PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

Este producto lo debe utilizar personal con formación en procedimientos que incluyan el uso previsto del producto.

No usar frascos en los que el envase estéril esté dañado.

No utilizar los componentes del CHANG Medium D más allá de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.

FRANÇAIS

INDICATION D'UTILISATION

CHANG Medium D avec gentamicine peut être utilisé pour les applications suivantes :

1. La culture primaire des cellules du liquide amniotique ;
2. Le repiquage des cellules du liquide amniotique ;
3. La culture des cellules de la moelle osseuse ;
4. La culture des tissus des prélèvements de villosités choriales de la membrane amniotique.

Ce milieu a été conçu pour être utilisé dans les étuves à CO₂ (cultures équilibrées dans une atmosphère contenant 5 à 8 % de CO₂).

Le pH final doit se situer entre 6,8 et 7,2.

DESCRIPTION DU DISPOSITIF

CHANG Medium D a été conçu pour la culture primaire des cellules de liquide amniotique humain lors du caryotypage et des autres tests de diagnostic génétique prénatal. Cette formule a été optimisée pour les méthodes de culture en flacons et *in situ*. CHANG Medium D contient 50 µg/ml de sulfate de gentamicine (antibiotique).

COMPOSANTS

<u>Acides aminés</u>	Bêta-estradiol	Riboflavine
Alanine	Hydrocortisone	Thiamine
Arginine		Acide
Asparagine	<u>Autre</u>	panthothénique
Acide aspartique	Biotine	Cobalamine
Cystéine	Alcool éthylique	Pyridoxine
Acide glutamique	Thyronine	
Glutamine		<u>Sels et ions</u>
Glycine	<u>Antioxydant</u>	Chlorure
Histidine	Acide thioctique	de sodium
Isoleucine		Sélénite
Leucine	<u>Acides nucléiques</u>	de sodium
Lysine	Désoxyadénosine	Chlorure
Méthionine	Désoxycytidine	de calcium
Phénylalanine	Désoxyguanosine	Chlorure
Proline	Adénosine	de choline
Sérine	Cytidine	Chlorure
Thréonine	Guanosine	de potassium
Tryptophane	Thymidine	Sulfate de
Tyrosine	Uridine	magnésium
Valine		Phosphate
	<u>Substrats</u>	de sodium
<u>Protéines,</u>	<u>énergétiques</u>	
<u>hormones</u>	<u>Glucose</u>	<u>Tampon</u>
<u>et facteurs</u>	Pyruvate	Bicarbonate
<u>de croissance</u>	Inositol	de sodium
Sérum de veau		
foetal (SVF)	<u>Indicateur de pH</u>	<u>Antibiotique</u>
Sérum de veau	Rouge de phénol	Sulfate de
Facteur de		gentamicine
croissance des	<u>Vitamines et oligo-</u>	
fibroblastes	<u>éléments</u>	<u>Eau</u>
Insuline	Acide ascorbique	Qualité WFI
Progestérone	Acide folique	
Testostérone	Nicotinamide	

ASSURANCE QUALITÉ

STÉRILITÉ

Le sérum utilisé dans la fabrication de CHANG Medium D a été testé pour les contaminations virales selon le code des réglementations fédérales CFR Title 9 Part 113.53. Il a été aussi testé pour le mycoplasme. CHANG Medium D est stérilisé par filtration avec un filtre de 0,1 µm. Des échantillons de CHANG Medium D sont testés pour une éventuelle contamination bactérienne selon le protocole de test de stérilité décrit dans le test de stérilité courant de la pharmacopée américaine (USP) <71>.

PRÉPARATION

1. Décongeler rapidement CHANG Medium D en agitant le flacon dans un bain-marie à 37 °C.
2. CHANG Medium D contient 50 µg/ml de sulfate de gentamicine (antibiotique). D'autres antibiotiques peuvent également être ajoutés, le cas échéant.

PRÉPARATION D'ALIQUOTES DE CHANG MEDIUM D

1. Décongeler CHANG Medium D conformément aux instructions.
2. Répartir stérilement en plusieurs aliquotes de taille appropriée et recongeler.
3. Décongeler les aliquotes dans un bain-marie à 37 °C lorsqu'elles sont prêtes à être utilisées.

MODE D'EMPLOI

Utilisation de CHANG Medium D pour les cultures primaires : méthodes *in situ*

1. Centrifuger le liquide amniotique à faible vitesse pour concentrer les cellules.
2. Remettre le culot cellulaire en suspension dans un petit volume du liquide amniotique de la patiente. Par exemple, aspirer le surnageant obtenu en centrifugeant 10 ml de liquide amniotique et remettre le culot en suspension dans 0,5 ml de ce liquide. Ajouter suffisamment de CHANG Medium D à la suspension concentrée des cellules pour obtenir un volume final nécessaire pour 4 lamelles (0,5 ml par lamelle) ou 2 ml par petit flacon de culture.
3. Incuber les cultures sans agitation à 37 °C en atmosphère de CO₂ (5 à 8 %).
4. Inonder les cultures le deuxième jour en ajoutant 2 ml de CHANG Medium D.
5. Au bout de 4 à 5 jours, vérifier la croissance des cultures. Dès qu'une croissance est observée, alimenter les cultures en retirant le surnageant et en le remplaçant par 2 ml de CHANG Medium D frais. Il est recommandé d'alimenter les cultures tous les 2 jours par la suite.
6. Vérifier la croissance des cultures à partir du cinquième jour et procéder à la collecte lorsque les cultures ont des colonies de taille suffisante.
7. Les meilleurs résultats sont obtenus lorsque les cultures sont alimentées avec CHANG Medium D la veille de la collecte.

Utilisation de CHANG Medium D pour les cultures primaires : méthodes de culture en flacons

1. Centrifuger le liquide amniotique à faible vitesse pour concentrer les cellules.
2. Remettre le culot cellulaire en suspension dans un petit volume du liquide amniotique de la patiente. Par exemple, aspirer le surnageant obtenu en centrifugeant 10 ml de liquide amniotique et remettre le culot en suspension dans 1 ml de ce liquide. Ajouter 4 ml de CHANG Medium D pour obtenir un volume total de 5 ml par flacon.
3. Incuber les cultures sans agitation à 37 °C en atmosphère de CO₂ (5 à 8 %).
4. Vérifier la croissance des cultures le cinquième jour. Changer le milieu avec du CHANG Medium D frais et procéder à la collecte lorsqu'une croissance suffisante des cellules est observée.
5. Examiner la croissance et changer complètement le milieu tous les jours jusqu'à ce que le nombre des colonies soit suffisant pour la collecte.
6. Les meilleurs résultats sont obtenus lorsque les cultures sont alimentées avec CHANG Medium D la veille de la collecte.

Utilisation de CHANG Medium D pour le repiquage des cellules du liquide amniotique :

Pour repiquer les cellules, traiter les cultures avec de la trypsine (ou de la pronase, etc.) comme vous le faites normalement lorsque les cellules sont cultivées dans un milieu conventionnel. Le traitement avec des protéases doit cependant être surveillé avec prudence. Les cellules du liquide amniotique cultivées dans du CHANG Medium D ont tendance à être plus sensibles au traitement protéasique que celles cultivées dans un milieu traditionnel. Il peut être nécessaire de modifier le protocole en conséquence.

Le pH du milieu utilisé pour alimenter les cultures doit se situer entre 6,8 et 7,2 (c.-à-d. le milieu doit être de couleur légèrement jaunâtre-saumon). Le pH peut facilement être ajusté en plaçant le tube du milieu dans une étuve à CO₂ (5 à 8 %), le bouchon légèrement dévissé pendant environ 30 minutes.

Remarque : des cristaux d'oxalate de calcium se forment en général dans CHANG Medium D. Rien n'indique que la présence de ces cristaux ne compromette les performances du produit.

CHANG Medium D contient du sulfate de gentamicine (antibiotique). Des précautions particulières doivent être prises pour s'assurer que le patient ne présente aucune sensibilité à cet antibiotique.

CONSERVATION ET STABILITÉ

Conservé CHANG Medium D congelé à -10 °C. Les portions non utilisées de CHANG Medium D peuvent être recongelées ou conservées entre 2 et 8 °C.

Protéger de la lumière fluorescente.

Consulter la date de péremption précise sur l'étiquette du flacon. CHANG Medium D peut être recongelé deux fois maximum et conservé congelé entre 2 et 8 °C pendant 14 jours sans que ses fonctions n'en soient compromises. La conservation au-delà de 14 jours n'est pas recommandée.

PRÉCAUTIONS ET MISES EN GARDE

Ce dispositif est destiné à une utilisation par un personnel formé aux techniques comprenant l'application indiquée pour laquelle le dispositif est prévu.

Ne pas utiliser de flacon dont la stérilité de l'emballage a été compromise.

Ne pas utiliser CHANG Medium D au-delà de la date de péremption indiquée sur l'étiquette.

PORTUGUÊS

INDICAÇÃO DE UTILIZAÇÃO

O CHANG Medium D com gentamicina pode ser utilizado nas seguintes aplicações:

1. cultura primária de células do líquido amniótico
2. células do líquido amniótico obtidas por passagem em crescimento
3. cultura primária de células da medula óssea
4. tecido sólido do âmnio obtido por colheita de amostras das vilosidades coriônicas.

Este meio foi concebido para utilização em incubadoras de CO₂ (culturas equilibradas com atmosfera de 5%–8% de CO₂).

O pH final tem de se situar entre 6,8 e 7,2.

DESCRIÇÃO DO DISPOSITIVO

O CHANG Medium D foi desenvolvido para a cultura primária de células do líquido amniótico humano para utilização na cariotipagem e noutros testes genéticos pré-natais. Esta fórmula foi otimizada para metodologias em frasco de cultura e *in situ*. O CHANG Medium D contém o antibiótico sulfato de gentamicina (50 µg/ml).

COMPONENTES

<u>Aminoácidos</u>	Testosterona	Nicotinamida
Alanina	Beta-estradiol	Riboflavina
Arginina	Hidrocortisona	Tiamina
Asparagina		Ácido pantoténico
Ácido aspártico	<u>Outro</u>	Cobalamina
Cisteína	Biotina	Pridoxina
Ácido glutâmico	Alcool etílico	
Glutamina	Tironina	<u>Sais e iões</u>
Glicina		Cloreto de sódio
Histidina	<u>Antioxidante</u>	Selenito de sódio
Isoleucina	Ácido tióctico	Cloreto de cálcio
Leucina		Cloreto de colina
Lisina	<u>Ácidos nucleicos</u>	Cloreto de potássio
Metionina	Desoxiadenosina	Sulfato de magnésio
Fenilalanina	Desoxiciditina	Fosfato de sódio
Prolina	Desoxiguanosina	
Serina	Adenosina	<u>Tampão</u>
Treonina	Citidina	Bicarbonato de sódio
Triptofano	Guanosina	
Tirosina	Timidina	
Valina	Uridina	

Proteínas, hormonas e fatores de crescimento

Soro bovino fetal (FBS)
Soro de vitelo
Fator de crescimento dos fibroblastos (FGF)
Insulina
Progesterona

Substratos energéticos

Glucose
Piruvato
Inositol
Indicador de pH
Vermelho de fenol

Vitaminas e oligoelementos

Ácido ascórbico
Ácido fólico

Antibiótico

Sulfato de gentamicina
Água
Qualidade
WFI (água p/ preparações injetáveis)

GARANTIA DE QUALIDADE

ESTERILIDADE

O soro utilizado na produção do CHANG Medium D foi testado em relação a contaminação viral de acordo com a norma CFR Título 9 Parte 113.53. Foi igualmente submetido a rastreio de micoplasmas. O CHANG Medium D foi esterilizado por filtração através de um filtro de 0,1 µm. Foram testadas amostras de CHANG Medium D quanto a possível contaminação bacteriológica, seguindo o protocolo para testes de esterilidade do capítulo 71 da versão atual da USP (Farmacopeia dos EUA).

PREPARAÇÃO PARA UTILIZAÇÃO

1. Descongele o CHANG Medium D rapidamente, girando o frasco em banho-maria a 37 °C.
2. O CHANG Medium D contém o antibiótico sulfato de gentamicina (50 µg/ml). Se pretender, pode adicionar mais antibióticos.

DIVIDIR EM ALÍQUOTAS O CHANG MEDIUM D

1. Descongele o CHANG Medium D de acordo com as instruções.
2. Distribua asseticamente em alíquotas de tamanho conveniente e volte a congelar.
3. Descongele as alíquotas em banho-maria a 37 °C quando estiver pronto para utilizar.

INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

Utilização do CHANG Medium D para culturas primárias:

Metodologias *in situ*

1. Centrifugue o líquido amniótico a baixa velocidade para concentrar as células.
2. Ressuspenda o *pellet* de células num pequeno volume de líquido amniótico da própria doente. Por exemplo, aspire o sobrenadante de 10 ml de líquido amniótico centrifugado até 0,5 ml acima do *pellet* de células e ressuspenda. Adicione CHANG Medium D suficiente à suspensão de células concentrada para permitir o volume final em placa equivalente a 0,5 ml por lamela (total de 4 lamelas) ou a 2 ml por frasco de cultura.
3. Incube as culturas sem interferência a 37 °C numa atmosfera de 5%–8% de CO₂.
4. Inunde as culturas no 2.º dia, adicionando 2 ml de CHANG Medium D.
5. O crescimento das culturas deve ser verificado após 4 a 5 dias. Logo que se observe crescimento, as culturas devem ser alimentadas. Alimente as culturas, removendo todo o sobrenadante da cultura e substituindo-o por 2 ml de CHANG Medium D fresco. Recomenda-se que as culturas sejam alimentadas a cada 2 dias daí em diante.
6. Verifique o crescimento das culturas no 5.º dia ou após esse dia e proceda à colheita quando se observarem colónias suficientes.
7. Os melhores resultados obtêm-se quando as culturas são alimentadas com CHANG Medium D no dia anterior à colheita.

Utilização do CHANG Medium D para culturas primárias: Metodologias em frasco de cultura

1. Centrifugue o líquido amniótico a baixa velocidade para concentrar as células.
2. Ressuspenda o *pellet* de células num pequeno volume de líquido amniótico da própria doente. Por exemplo, aspire o sobrenadante de 10 ml de líquido amniótico centrifugado até 1 ml acima do *pellet* de células e ressuspenda. Adicione 4 ml de CHANG Medium D para um volume total de 5 ml por frasco.
3. Incube as culturas sem interferência a 37 °C numa atmosfera de 5%–8% de CO₂.
4. Verifique se existe crescimento no 5.º dia. Substitua o meio por CHANG Medium D fresco e efetue a colheita caso se observe um crescimento de células suficiente.
5. Verifique o crescimento das culturas e substitua totalmente o meio todos os dias daí em diante até se observarem colónias suficientes prontas para colheita.
6. Os melhores resultados obtêm-se quando as culturas são alimentadas com CHANG Medium D no dia anterior à colheita.

Utilização do CHANG Medium D para células do líquido amniótico obtidas por passagem em crescimento:

Para proceder à passagem das células, trate as culturas com tripsina (ou pronase, etc.) como faria normalmente quando as células crescem num meio convencional. Contudo, o tratamento com protease deve ser cuidadosamente monitorizado. As células do líquido amniótico que crescem em CHANG Medium D tendem a ser mais sensíveis ao tratamento com protease do que as células do líquido amniótico que crescem num meio convencional. Pode ser necessário modificar o seu protocolo de modo a ter este facto em consideração.

O pH do meio utilizado para alimentação das culturas tem de se situar entre 6,8 e 7,2 (ou seja, o meio tem de ter uma cor salmão ligeiramente amarelada). O ajuste do pH pode ser facilmente efetuado, colocando o meio numa incubadora com 5%–8% de CO₂ com a tampa ligeiramente desapertada durante cerca de 30 minutos.

Nota: A formação de cristais de oxalato de cálcio é frequente no CHANG Medium D. A presença destes cristais não demonstrou causar qualquer efeito prejudicial no desempenho do produto.

O CHANG Medium D contém o antibiótico sulfato de gentamicina. Devem ser tomadas as precauções adequadas para assegurar que a doente não é sensível a este antibiótico.

CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE

Conserve o CHANG Medium D congelado a -10 °C. Pode voltar a congelar o CHANG Medium D não usado ou conservá-lo entre 2 °C e 8 °C.

Proteger da luz fluorescente.

Consulte o prazo de validade específico no rótulo do frasco. O CHANG Medium D pode ser recongelado 2 vezes no máximo e conservado descongelado entre 2 °C e 8 °C durante 14 dias sem que isso afete o seu desempenho. Não se recomenda um período de conservação superior a 14 dias.

PRECAUÇÕES E ADVERTÊNCIAS

Este dispositivo destina-se a ser utilizado por pessoal com formação em técnicas que incluem a aplicação indicada à qual se destina o dispositivo.

Não utilize nenhum frasco cuja embalagem estéril tenha sido comprometida.

Não utilize o CHANG Medium D para além do prazo de validade indicado no rótulo.

ΕΛΛΗΝΙΚΑ

ΕΝΔΕΙΞΗ ΧΡΗΣΗΣ

Το CHANG Medium D με γενταμικίνη μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τις παρακάτω εφαρμογές:

1. την πρωτογενή καλλιέργεια κυττάρων αμνιακού υγρού
2. την ανάπτυξη κυττάρων υποκαλλιεργιών αμνιακού υγρού
3. την καλλιέργεια κυττάρων του μυελού των οστών
4. τη δειγματοληψία συμπαγούς αμνιακού ιστού από χοριακές λάχνες.

Αυτό το μέσο έχει σχεδιαστεί για χρήση σε επωαστήρες CO₂ (καλλιέργειες εξισορροπημένες με ατμόσφαιρα 5%-8% CO₂).

Το τελικό pH πρέπει να είναι 6,8-7,2.

ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΗΣ ΣΥΣΚΕΥΗΣ

Το CHANG Medium D αναπτύχθηκε για την πρωτογενή καλλιέργεια ανθρώπινων κυττάρων αμνιακού υγρού για χρήση σε καρυοτυποποίηση και άλλες προγεννητικές γενετικές εξετάσεις. Αυτή η σύνθεση έχει βελτιστοποιηθεί τόσο για μεθοδολογίες για μπουκαλάκια όσο και για μεθοδολογίες in situ. Το CHANG Medium D περιέχει το αντιβιοτικό θειική γενταμικίνη (50 µg/mL)

ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ

<u>Αμινοξέα</u>	Τεστοστερόνη	Φυλλικό οξύ
Αλανίνη	Βήτα οιστραδιόλη	Νικοτιναιμίδη
Αργινίνη	Υδροκορτιζόνη	Ριβοφλαβίνη
Ασπαραγίνη		Θεαμίνη
Ασπαρτικό οξύ	<u>Άλλα</u>	Παντοθενικό οξύ
Κυστεΐνη	Βιοτίνη	Κοβαλαμίνη
Γλουταμικό οξύ	Αιθυλική αλκοόλη	Πυριδοξίνη
Γλουταμίνη	Θυρονίνη	
Γλυκίνη		<u>Άλατα και ιόντα</u>
Ιστιδίνη	<u>Αντιοξειδωτικό</u>	Χλωριούχο νάτριο
Ισολευκίνη	Θειοκτικό οξύ	Σεληνικό νάτριο
Λευκίνη		Χλωριούχο ασβέστιο
Λυσίνη	<u>Νουκλεϊκά οξέα</u>	Χλωριούχος χολίνη
Μεθειονίνη	Δεοξυαδενοσίνη	Χλωριούχο κάλιο
Φαινυλαλανίνη	Δεοξυκυτιδίνη	Θειικό μαγνήσιο
Προλίνη	Δεοξυγουανοσίνη	Φωσφορικό νάτριο
Σερίνη	Αδενοσίνη	
Θρεονίνη	Κυτιδίνη	<u>Ρυθμιστικό διάλυμα</u>
Τρυπτοφάνη	Γουανοσίνη	Διττανθρακικό νάτριο
Τυροσίνη	Θυμιδίνη	
Βαλίνη	Ουριδίνη	
<u>Πρωτεΐνες, ορμόνες και αυξητικοί παράγοντες</u>	<u>Ενεργειακά υποστρώματα</u>	<u>Αντιβιοτικό</u>
Ορός από έμβryo βοοειδών (FBS)	Γλυκόζη	Θειική γενταμικίνη
Ορός από μικρό μσχάρι	Πυροσταφυλικό	
Αυξητικός παράγοντας ινοβλαστών (FGF)	Ινοσιτόλη	<u>Νερό</u>
Ινσουλίνη	<u>Δείκτης pH</u>	Ποιότητα ενέσιμου ύδατος (WFI)
Προγεστερόνη	Ερυθρό της φαινόλης	
	<u>Βιταμίνες και ιννοστοιχεία</u>	
	Ασκορβικό οξύ	

ΔΙΑΣΦΑΛΙΣΗ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ

ΣΤΕΙΡΟΤΗΤΑ

Ο ορός που χρησιμοποιείται στην παραγωγή του CHANG Medium D έχει ελεγχθεί για ιογενή μόλυνση σύμφωνα με το CFR Title 9 Part 113.53. Έχει επίσης εξεταστεί για μυκόπλασμα. Το CHANG Medium D έχει αποστειρωθεί μέσω διήθησης με φίλτρο 0,1 μικρομέτρων. Δείγματα του CHANG Medium D ελέγχονται για πιθανή βακτηριολογική μόλυνση, ακολουθώντας το πρωτόκολλο δοκιμασίας στεριότητας που περιγράφεται στην τρέχουσα δοκιμασία στεριότητας κατά USP <71>.

ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΧΡΗΣΗΣ

1. Αποψύξτε το CHANG Medium D γρήγορα, περιδινίζοντας τη φιάλη σε υδατόλουτρο θερμοκρασίας 37 °C.
2. Το CHANG Medium D περιέχει το αντιβιοτικό θειική γενταμικίνη (50 µg/mL). Μπορείτε να προσθέσετε συμπληρωματικά αντιβιοτικά αν το επιθυμείτε.

ΔΙΑΜΟΙΡΑΣΜΟΣ ΤΟΥ CHANG MEDIUM D ΣΕ ΚΛΑΣΜΑΤΑ

1. Αποψύξτε το CHANG MEDIUM D σύμφωνα με τις οδηγίες.
2. Διανείμετε, υπό άσηπτες συνθήκες, σε πρακτικού μεγέθους κλάσματα και καταψύξτε τα ξανά.
3. Αποψύξτε τα κλάσματα σε υδατόλουτρο θερμοκρασίας 37 °C όταν είστε έτοιμοι να τα χρησιμοποιήσετε.

ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ

Χρήση του CHANG MEDIUM D για πρωτογενείς καλλιέργειες: *in situ* μεθοδολογίες

1. Φυγοκεντρίστε το αμνιακό υγρό σε χαμηλή ταχύτητα, για συμπύκνωση των κυττάρων.
2. Επαναλάβετε την εναιώρηση του κυτταρικού συσσωματώματος σε μικρό όγκο αμνιακού υγρού της ίδιας της ασθενούς. Για παράδειγμα, αναρροφήστε το υπερκείμενο υγρό από τα 10 mL του φυγοκεντρισμένου αμνιακού υγρού, έως τα 0,5 mL πάνω από το κυτταρικό συσσωμάτωμα και επαναλάβετε την εναιώρηση. Προσθέστε επαρκή ποσότητα CHANG Medium D στο συμπυκνωμένο κυτταρικό εναιώρημα για να παρασχεθεί τελικός όγκος επίστρωσης 0,5 mL ανά καλυπτρίδα (συνολικά 4 καλυπτρίδες) ή 2 mL ανά μπουκαλάκι.
3. Επλώστε τις καλλιέργειες αδιατάρακτες σε ατμόσφαιρα 5%-8% CO₂ στους 37 °C.
4. Γεμίστε τις καλλιέργειες τη 2η ημέρα, προσθέτοντας 2 mL CHANG Medium D.
5. Μετά από 4 έως 5 ημέρες, οι καλλιέργειες θα πρέπει να ελέγχονται για την ανάπτυξη τους. Η παροχή θρεπτικού υλικού στις καλλιέργειες θα πρέπει να γίνεται αφού παρατηρηθεί ανάπτυξη. Παρέχετε θρεπτικό υλικό στις καλλιέργειες αφαιρώντας ολόκληρη την ποσότητα του υπερκείμενου υγρού της καλλιέργειας και αντικαθιστώντας το με 2 mL φρέσκου CHANG Medium D. Συνιστάται η παροχή θρεπτικού υλικού στις καλλιέργειες κάθε 2 ημέρες από αυτό το σημείο και έπειτα.
6. Ελέγξτε την ανάπτυξη των καλλιεργιών την 5η ημέρα, ή μετά από αυτήν, και συλλέξτε όταν παρατηρηθούν επαρκείς αποικίες.
7. Τα καλύτερα αποτελέσματα λαμβάνονται όταν οι καλλιέργειες τρέφονται με CHANG Medium D την ημέρα πριν από τη συλλογή.

Χρήση του CHANG MEDIUM D για πρωτογενείς καλλιέργειες: Μεθοδολογίες με μπουκαλάκια

1. Φυγοκεντρίστε το αμνιακό υγρό σε χαμηλή ταχύτητα, για συμπύκνωση των κυττάρων.
2. Επαναλάβετε την εναιώρηση του κυτταρικού συσσωματώματος σε μικρό όγκο αμνιακού υγρού της ίδιας της ασθενούς. Για παράδειγμα, αναρροφήστε το υπερκείμενο υγρό από τα 10 mL του φυγοκεντρισμένου αμνιακού υγρού, έως τα 1 mL πάνω από το κυτταρικό συσσωμάτωμα και επαναλάβετε την εναιώρηση. Προσθέστε 4 mL CHANG Medium D για συνολικό όγκο 5 mL ανά μπουκαλάκι.
3. Επλώστε τις καλλιέργειες αδιατάρακτες σε ατμόσφαιρα 5%-8% CO₂ στους 37 °C.
4. Ελέγξτε την ανάπτυξη την ημέρα 5. Αλλάζετε το μέσο με φρέσκο CHANG Medium D και συλλέξτε εάν παρατηρηθεί επαρκής κυτταρική ανάπτυξη.
5. Ελέγξτε την ανάπτυξη των καλλιεργιών και αλλάξτε πλήρως το μέσο καθημερινά, έως ότου παρατηρηθούν επαρκείς αποικίες και είναι έτοιμες για συλλογή.
6. Τα καλύτερα αποτελέσματα λαμβάνονται όταν οι καλλιέργειες τρέφονται με CHANG Medium D την ημέρα πριν από τη συλλογή.

Χρήση του CHANG Medium D για την ανάπτυξη κυττάρων υποκαλλιεργιών αμνιακού υγρού:

Για την υποκαλλιέργεια των κυττάρων, επεξεργαστείτε τις καλλιέργειες με θρυψίνη (ή προνάση κ.λπ.) όπως θα κάνατε εάν τα κύτταρα καλλιεργούνταν σε συμβατικό μέσο. Ωστόσο, η επεξεργασία με πρωτεάση θα πρέπει να παρακολουθείται προσεκτικά. Τα κύτταρα αμνιακού υγρού που καλλιεργούνται στο CHANG Medium D τείνουν να είναι περισσότερο ευαίσθητα στην επεξεργασία με πρωτεάση από τα κύτταρα του αμνιακού υγρού που καλλιεργούνται σε συμβατικά μέσα. Μπορεί να χρειαστεί να τροποποιήσετε το πρωτόκολλό σας για να λάβετε υπόψη αυτή την πληροφορία.

Το pH του μέσου που χρησιμοποιείται για τη θρέψη των καλλιεργιών πρέπει να είναι 6,8-7,2 (δηλαδή το μέσο πρέπει να έχει ελαφρώς κίτρινο χρώμα σολομού). Το pH μπορεί να ρυθμιστεί εύκολα, τοποθετώντας το μέσο σε επωαστήρα 5%-8% CO₂ με το πώμα ελαφρώς χαλαρό για περίπου 30 λεπτά.

Σημείωση: Στο CHANG Medium D σχηματίζονται συχνά κρύσταλλοι οξαλικού ασβεστίου. Η παρουσία αυτών των κρυστάλλων δεν έχει αποδειχθεί ότι προκαλεί οποιαδήποτε αρνητική επίδραση στην απόδοση του προϊόντος.

Το CHANG Medium D περιέχει το αντιβιοτικό θειική γενταμικίνη. Θα πρέπει να λαμβάνονται οι απαραίτητες προφυλάξεις για να διασφαλιστεί ότι ο ασθενής δεν έχει ευαισθησία στο συγκεκριμένο αντιβιοτικό.

ΦΥΛΑΞΗ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ

Φυλάσσετε το CHANG Medium D κατεψυγμένο στους -10 °C. Το μη χρησιμοποιημένο CHANG Medium D μπορεί να επανακαταψυχθεί ή να φυλαχθεί στους 2 °C έως 8 °C.

Προστατέψτε το από φθορίζον φως.

Δείτε την ετικέτα της φιάλης για τη συγκεκριμένη ημερομηνία λήξης. Το CHANG Medium D μπορεί να επανακαταψυχθεί το μέγιστο 2 φορές και να φυλαχθεί αποψυγμένο στους 2 °C έως 8 °C για 14 ημέρες, χωρίς να επηρεαστεί η λειτουργία του. Δεν συστήνεται η φύλαξη για διάστημα μεγαλύτερο των 14 ημερών.

ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΕΙΣ

Η συσκευή αυτή προορίζεται για χρήση από προσωπικό που έχει εκπαιδευτεί σε διαδικασίες που περιλαμβάνουν την υποδεικνυόμενη εφαρμογή για την οποία προορίζεται η συσκευή.

Μη χρησιμοποιείτε καμία φιάλη στην οποία έχει παραβιαστεί η ακεραιότητα της αποστειρωμένης συσκευασίας.

Μη χρησιμοποιείτε το CHANG Medium D μετά την παρέλευση της ημερομηνίας λήξης που υποδεικνύεται στην ετικέτα.

ČEŠTINA

INDIKACE PRO POUŽITÍ

CHANG Medium D s gentamicinem lze použít pro tyto aplikace:

1. primokultivace buněk z plodové vody
2. pěstování pasážovaných buněk z plodové vody
3. kultivace buněk kostní dřevě
4. odběr vzorků pevné amniotické tkáně z choriových klků

Toto médium je určeno k použití v CO₂ inkubátorech (kultury ekvilibrovány s atmosférou s 5 % – 8 % CO₂).

Konečné pH musí být 6,8–7,2.

POPIS PROSTŘEDKU

CHANG Medium D bylo vyvinuto k primokultivaci lidských buněk z plodové vody pro účely karyotypizace a jiných antenálních genetických testů. Složení bylo optimalizováno pro metody s použitím kultivační lahve i metody in situ. CHANG Medium D obsahuje antibiotikum gentamicin-sulfát (50 µg/ml).

SLOŽKY

Aminokyseliny	Inzulín	Vitaminy a stopové prvky
Alanin	Progesteron	Kyselina askorbová
Arginin	Testosteron	Kyselina listová
Asparagin	Beta-estradiol	Nikotinamid
Kyselina	Hydrokortison	Riboflavin
asparagová		Thiamin
Cystein	Ostatní	Kyselina
Kyselina glutamová	Biotin	pantothenová
Glutamin	Ethylalkohol	Kobalamin
Glycin	Thyroxin	Pyridoxin
Histidin		
Isoleucin	Antioxidant	
Leucin	Kyselina thioktová	Soli a ionty
Lysin		Chlorid sodný
Methionin	Nukleové kyseliny	Seleničitan sodný
Fenylalanin	Deoxyadenosin	Chlorid vápenatý
Prolin	Deoxycytidin	Cholinchlorid
Serin	Deoxyguanosin	Chlorid draselný
Threonin	Adenosin	Síran hořečnatý
Tryptofan	Cytidin	Fosforečnan sodný
Tyrosin	Guanosin	
Valin	Thymidin	Pufř
	Uridin	Hydrogenuhličitán sodný

Proteiny, hormony

a růstové faktory

Fetální bovinní sérum (FBS)

Bovinní telecí sérum

Fibroblastový růstový faktor (FGF)

Indikátor pH

Fenolová červen

Energetické substráty

Glukóza

Pyruvát

Inositol

Voda

V kvalitě vody pro injekci

Antibiotikum

Gentamicin-sulfát

ZAJIŠTĚNÍ KVALITY

STERILITA

Sérum používané k výrobě doplňku CHANG Medium D bylo testováno na přítomnost virové kontaminace podle předpisů CFR hlava 9 část 113.53. Byl také proveden screening na mykoplasmatata. CHANG Medium D je sterilizováno filtrací o jemnosti 0,1 mikronu. Vzorky CHANG Medium D jsou testovány na možnou bakteriální kontaminaci podle protokolů testování sterility popsaného v aktuálně používaném testu na kontrolu sterility podle lékopisu USA <71>.

PŘÍPRAVA K POUŽITÍ

1. CHANG Medium D rychle rozmrazte kroužením lahve ve vodní lázni o teplotě 37 °C.
2. CHANG Medium D obsahuje antibiotikum gentamicinsulfát (50 µg/ml). Podle potřeby lze přidat další antibiotika.

ROZDĚLENÍ MÉDIA CHANG MEDIUM D

1. Podle pokynů rozmrazte CHANG Medium D.
2. Asepticky rozdělte na díly o příhodném objemu a znovu zmrazte.
3. Až je budete připraveni použít, rozmrazte díly ve vodní lázni o teplotě 37 °C.

NÁVOD K POUŽITÍ

Použití média CHANG Medium D k primokultivaci: metody *in situ*

1. Odstředěním plodové vody při nízkých otáčkách koncentrujte buňky.
2. Resuspendujte buněčný pelet v malém objemu vlastní plodové vody pacientky. Například aspirujte supernatant z 10 ml odstředěné plodové vody, aby zbylo jen 0,5 ml nad buněčným peletem a resuspendujte. Ke koncentrované buněčné suspenzi přidejte dostatečné množství CHANG

Medium D, abyste výsledně měli 0,5 ml na jedno krycí sklíčko (celkem 4 krycí sklíčka) nebo 2 ml na kultivační lahvičku.

3. Inkubujte kultury nerušeně při teplotě 37 °C v atmosféře s 5 % – 8 % CO₂.
4. 2. den kultury zaplavte přidáním 2 ml CHANG Medium D.
5. Po 4 až 5 dnech zkontrolujte růst kultur. Jakmile začnou růst, je třeba dodat živiny. Živiny dodejte tak, že odstraníte veškerý supernatant kultury a nahradíte ho 2 ml čerstvého CHANG Medium D. Poté doporučujeme kulturám doplňovat živiny každé 2 dny.
6. 5. den nebo po něm kontrolujte růst kultur a když zjistíte dostatečně kolonie, proveďte sběr.
7. Optimálních výsledků se dosahuje, pokud jsou kultury živiny médiem CHANG Medium D den před sběrem.

Použití média CHANG Medium D k primokultivaci: metody s využitím kultivačních lahví

1. Odstředěním plodové vody při nízkých otáčkách koncentrujte buňky.
2. Resuspendujte buněčný pelet v malém objemu vlastní plodové vody pacientky. Například aspirujte supernatant z 10 ml odstředěné plodové vody, aby zbyl jen 1 ml nad buněčným peletem a resuspendujte. Přidejte 4 ml média CHANG Medium D; celkový objem na kultivační lahve bude 5 ml.
3. Inkubujte kultury nerušeně při teplotě 37 °C v atmosféře s 5 % – 8 % CO₂.
4. 5. den zkontrolujte růst. Nahraděte médium čerstvým médiem CHANG Medium D a, pokud zjistíte dostatečný růst buněk, proveďte sběr.
5. Následně kontrolujte růst kultur a provádějte úplné výměny média každý den, dokud nezjistíte dostatečně kolonie a nejlépe připraveni ke sběru.
6. Optimálních výsledků se dosahuje, pokud jsou kultury živiny médiem CHANG Medium D den před sběrem.

Použití média CHANG Medium D k pěstování pasážovaných buněk z plodové vody:

Buňky pasážujte ošetřením kultur trypsinem (nebo pronázou apod.) podle běžného postupu u buněk pěstovaných v konvenčním médiu. Ošetření proteázou je však třeba pečlivě monitorovat. Buňky z plodové vody pěstované v médiu CHANG Medium D mají tendenci k větší citlivosti na ošetření proteázou než buňky z plodové vody pěstované v konvenčním médiu. S ohledem na tuto skutečnost bude možná třeba upravit používaný protokol.

pH média používaného k výživě kultur musí být v rozmezí 6,8–7,2 (tj. médium musí mít mírně nažloutlou lososovou barvu). pH lze snadno upravit vložением média s mírně uvolněným uzávěrem do inkubátoru s atmosférou 5 % – 8 % CO₂ přibližně na 30 minut.

Poznámka: V médiu CHANG Medium D se běžně tvoří krystalky štavelanu vápenatého. Nebylo prokázáno, že by přítomnost těchto krystalků měla jakýkoli negativní účinek na funkci výrobku.

CHANG Medium D obsahuje antibiotikum gentamicinsulfát. Vhodným preventivním postupem ověřte, že pacientka není senzitivní na toto antibiotikum.

UCHOVÁVÁNÍ A STABILITA

Médium -CHANG Medium D uchovávejte zmrazené při teplotě -10 °C. Nepoužité médium CHANG Medium D lze znovu zmrazit nebo skladovat při teplotě 2 °C až 8 °C.

Chraňte před fluorescenčním světlem.

Specifické datum expirace naleznete na štítku lahve. CHANG Medium D lze opakovaně zmrazit maximálně 2x a uchovávat rozmrazené při teplotě 2 °C až 8 °C po dobu 14 dní, aniž by tím byly dotčeny jeho vlastnosti. Skladování po dobu delší než 14 dní se nedoporučuje.

BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ A VAROVÁNÍ

Tento prostředek je určen k použití pracovníky školenými v postupech, které zahrnují indikovanou aplikaci, pro kterou je prostředek určený.

Nepoužívejte žádnou lahve s poškozeným sterilním balením.

CHANG Medium D nepoužívejte po uplynutí data expirace vyznačeného na štítku.

DANSK

INDIKATIONER FOR ANVENDELSE

CHANG Medium D med gentamicin kan anvendes til følgende applikationer:

1. Primær dyrkning af amnionvæskeceller
2. Dyrkning af passerede amnionvæskeceller
3. Dyrkning af konglemarvsceller
4. Solidt amnionvæv fra chorionvilli-prøver.

Dette medium er fremstillet til brug i CO₂-inkubatorer (kulturer der er tilpasset en atmosfære på 5-8 % CO₂).

Den endelige pH-værdi skal ligge på 6,8-7,2.

BESKRIVELSE AF PRODUKTET

CHANG Medium D blev udviklet til primær dyrkning af humane amnionvæskeceller til karyotypebestemmelse og anden antenatal genetisk testning. Denne formulering er optimeret til metodologier til såvel kolbe som in situ. CHANG Medium D indeholder antibiotikummet gentamicinsulfat (50 µg/ml).

KOMPONENTER

Aminosyrer	Testosteron	Vitaminer og sporelementer
Alanin	Beta-østradiol	Ascorbinsyre
Arginin	Hydrokortison	Folinsyre
Asparagin		Nicotinamid
Asparaginsyre	Andet	Riboflavin
Cystein	Biotin	Thiamin
Glutaminsyre	Ætlylalkohol	Pantothensyre
Glutamin	Thyroxin	Cobalamin
Glycin		Pyridoxin
Histidin	Antioxidant	
Isoleucin	Thioctsyre	Salte og ioner
Leucin		Natriumklorid
Lysin	Nukleinsyrer	Natriumselenit
Methionin	Deoxyadenosin	Kalciumklorid
Phenylalanin	Deoxycytidin	Kolinchlorid
Prolin	Deoxyguanosin	Kaliumklorid
Serin	Adenosin	Magnesium-sulfat
Threonin	Cytidin	Natriumfosfat
Tryptofan	Guanosin	
Tyrosin	Thymidin	Buffer
Valin	Uridin	Natrium-bikarbonat

Proteiner

hormoner og vækstfaktorer

Føtal bovint serum (FBS)

Kalveserum

fibroblasti- kvasuteci- (FGF)

Insulin

Progesteron

Energisubstrater

Glukose

Pyruvat

Inositol

pH-indikator

Rød fenol

KVALITETSSIKRING

STERILITET

Sérum, der er anvendt i produktionen af CHANG Medium D, er testet for viral kontamination ifølge CFR Title 9 Part 113.53. Det er også screenet for mykoplasma. CHANG Medium D er steriliseret ved filtrering gennem et filter på 0,1 mikron. Prøver af CHANG Medium D testes for potentiel bakteriologisk kontaminering ifølge protokollen for sterilitetstestning som beskrevet i den aktuelle USP-sterilitetstest <71>.

KLARGØRING

1. Optø hurtigt CHANG Medium D ved at hvirvle flasken i et 37 °C vandbad.
2. CHANG Medium D indeholder antibiotikummet gentamicinsulfat (50 µg/ml). Der kan eventuelt tilsættes ekstra antibiotika.

AFMÅLING AF CHANG MEDIUM D

1. Optø CHANG Medium D ifølge vejledningen.
2. Fordel mediet aseptisk i mængder af passende størrelse, og nedfrys dem igen.
3. Optø de opdelte mængder i et 37 °C vandbad, når de skal bruges.

BRUGSANVISNING

Anvendelse af CHANG Medium D til primære kulturer: *In situ*-metodologier

1. Centrifuger amnionvæskken ved lav hastighed for at koncentrere cellerne.
2. Resuspendér celledelleten i en lille volumen af patientens egen amnionvæske. Aspirer f.eks. supernatanten fra 10 ml centrifugeret amnionvæske til 0,5 ml over celledelleten, og resuspendér. Tilsæt nok CHANG Medium D til den koncentrerede celleduspension for at få en

endelig udsåningsvolumen på 0,5 ml pr. dækglas (i alt 4 dækglass) eller 2 ml pr. ampul.

3. Inkuber kulturerne uforstyrret ved 37 °C i en atmosfære med 5-8 % CO₂.
4. Skyl kulturerne på dag 2 ved at tilsætte 2 ml CHANG Medium D.
5. Efter 4-5 dage skal kulturerne vækst kontrolleres. Kulturerne skal næres, når der er observeret vækst. Dette gøres ved at fjerne hele kultursupernatanten og erstatte den med 2 ml friskt CHANG Medium D. Det anbefales, at kulturerne næres hver anden dag herefter.
6. Kontroller kulturerne vækst på/eller efter dag 5, og høst, når der observeres nok kolonier.
7. De bedste resultater opnås, hvis kulturerne forsynes med CHANG Medium D dagen inden høsten.

Anvendelse af CHANG Medium D til primære kulturer: Metodologi med kolbe

1. Centrifuger amnionvæskken ved lav hastighed for at koncentrere cellerne.
2. Resuspendér celledelleten i en lille volumen af patientens egen amnionvæske. Aspirer f.eks. supernatanten fra 10 ml centrifugeret amnionvæske til 1 ml over celledelleten, og resuspendér. Tilsæt 4 ml CHANG Medium D, så den totale volumen er 5 ml pr. kolbe.
3. Inkuber kulturerne uforstyrret ved 37 °C i en atmosfære med 5-8 % CO₂.
4. Kontroller væksten på dag 5. Udskift mediet med friskt CHANG Medium D, og høst, hvis der observeres tilstrækkelig celledækning.
5. Kontroller kulturerne vækst, og udskift mediet fuldstændigt hver dag herefter, indtil der observeres nok kolonier, som er klar til at blive høstet.
6. De bedste resultater opnås, hvis kulturerne forsynes med CHANG Medium D dagen inden høsten.

Anvendelse af CHANG Medium D til dyrkning af passerede amnionvæskeceller:

Passage af cellerne opnås ved at behandle kulturerne med trypsin (eller pronase m.m.) som ved celler, der dyrkes i konventionelt medium. Proteasebehandling skal imidlertid overvåges nøje. Amnionvæskeceller, der dyrkes i CHANG Medium D, har en tendens til at være mere sensitive over for proteasebehandling end amnionvæskeceller, der dyrkes i konventionelt medium. Det kan være nødvendigt at ændre protokollen for at tage hensyn hertil.

pH-værdien af det medium, der anvendes til kulturerne, skal være 6,8-7,2 (dvs. at mediet skal have en let gullig laksefarve). pH-værdien kan let justeres ved at anbringe mediet i en inkubator med 5-8 % CO₂ med låget løsnet let i ca. 30 minutter.

Bemærk: Der dannes ofte kalciumoxalatkristaller i CHANG Medium D. Tilstedeværelsen af disse krystaller lader ikke til at forårsage nogen skadelig effekt på produktets ydeevne.

CHANG Medium D indeholder antibiotikummet gentamicinsulfat. Passende forholdsregler skal overholdes for at sikre, at patienten ikke er sensibiliseret mod dette antibiotikum.

OPBEVARING OG STABILITET

Opbevar CHANG Medium D frosset ved -10 °C. Ubrugt CHANG Medium D kan nedfryses igen eller opbevares ved 2-8 °C.

Beskyttes mod fluorescerende lys.

Se udløbsdatoen på flaskeetiketten. CHANG Medium D kan nedfryses højst 2 gange efter optøning og opbevares optøet ved 2-8 °C i 14 dage, uden at det påvirker dets virkning. Opbevaring længere end 14 dage frarådes.

FORHOLDSREGLER OG ADVARSLER

Dette udstyr er beregnet til brug af personale, der er uddannet i procedurer, der inkluderer den indicerede anvendelse, som dette udstyr er beregnet til.

Flasker, hvis sterile emballage er blevet kompromitteret, må ikke anvendes.

Anvend ikke CHANG Medium D efter den udløbsdato, der er angivet på etiketten.

SUOMI

KÄYTTÖAIHE

Gentamysiini sisältävää CHANG Medium D -elatusainetta voidaan käyttää seuraaviin tarkoituksiin:

1. lapsivesisolujen primaariviljely
2. siirrostettujen lapsivesisolujen kasvattaminen
3. luuydinsolujen viljely
4. kiinteää ammoniakalvokudoks istukkabiopsiasta.

Tämä elatusaine on suunniteltu käytettäväksi CO₂-lämpökaapissa (viljelmät, jotka on tasapainotettu 5–8-prosenttiseen CO₂-ilmakehässä).

Lopullisen pH-arvon on oltava 6,8–7,2.

VÄLINEEN KUVAUS

CHANG Medium D kehitettiin ihmisen lapsivesisolujen primaariviljelyyn karyotyypin määrittämistä ja muita syntymää edeltäviä geneettisiä testejä varten. Koostumus on optimoitu sekä viljelypullo- että in situ -menetelmiä varten. CHANG Medium D sisältää gentamysiinisulfaatti-antibioottia (50 µg/ml)

AINESOSAT

Aminohapot	beetaestradioli hydrokortisoni	foolihapo nikotiiniamiidi riboflaviini
arginiini		tiiamiini
asparagiini	Muut	panoteenihapo
asparagiinihapo	biotiini	kobalamiini
glutamiini	etanoli	glutamiinihapo
glutamiinihapo	tyroniini	pyridoksiini
glutamiini		
glysiini	Antioksidantit	Suolat ja ionit
histidiini	tioktiinihapo	natriumkloridi
isoleusiini		natriumseleniitti
leusiini	Nukleiinihapot	kalsiumkloridi
lyysiini	deoksidenoosiini	koliinikloridi
metioniini	deoksisytidiini	kaliumpikraati
fenyylialaniini	deoksiguanosiini	magnesiumsulfaatti
proliini	adenoosiini	natriumfosfaatti
seriini	sytydiini	
treoniini	guanosiini	Puskuri
tryptofaani	tyrimiidiini	natrium-
tyrosiini	uridiini	bikarbonaatti
valiini		
Proteiinit, hormonit ja kasvutekijät	Energiasubstraattit	Antibiootit
naudan sikien seerumi (FBS)	glukoosi	gentamysiini-sulfaatti
vasikan seerumi	pyruvaatti	
fibroblastika-svutekijä (FGF)	inosiitolit	
insuliini	pH-indikaattori	Vesi
progesteroni	fenolipuna	injektioesteisiin tarkoitettu veden laatuinen
tetosteroni	Vitamiinit ja hivengaineet	askorbiinihapo

LAADUNVARMENNUS

STERIILIIYS

CHANG Medium D -tuotteen valmistuksessa käytettävä seerumi on testattu viruskontaminaation varalta CFR-säännöksen osan 9 pykälän 113.53 mukaisesti. Se on testattu myös mykoplasman varalta. CHANG Medium D on steriloitu suodattamalla 0,1 mikronin suodattimen läpi. CHANG Medium D -tuotteen näytteet testataan mahdollisen bakteerikontaminaation varalta noudattaen nykyisessä USP-steriiliiytestissä <71> kuvattua steriiliteustausmenettelyä.

KÄYTÖN VALMISTELU

1. Sulata CHANG Medium D -elatusaine nopeasti, 37 °C:n vesihuuteessa pulloa pyörittäen.
2. CHANG Medium D sisältää gentamysiinisulfaatti-antibioottia (50 µg/ml). Haluttaessa voidaan lisätä muita antibiootteja.

CHANG MEDIUM D -RAVINTOLISÄN JAKAMINEN ERIIN

1. Sulata CHANG Medium D ohjeiden mukaisesti.
2. Jaa aseptista menettelyä käyttäen käteväin kokoiisiin eriin ja pakasta uudelleen.
3. Kun elatusainetta tarvitaan käyttöön, sulata erät 37 °C:n vesihuuteessa.

KÄYTTÖOHJEET

CHANG Medium D -liuoksen käyttäminen primaariviljelmiin:

1. Konsentri solut sentrifugoimalla lapsivettä pienellä nopeudella.
2. Suspendoi solusakka pieneen määrään potilaan omaa lapsivettä. Jos esimerkiksi 10 ml:n lapsivesinäyte sentrifugoidaan, aspiroi supernatantia pois niin, että solusakan yläpuolelle jää 0,5 ml, ja suspendoi näyte uudelleen. Lisää riittävästi CHANG Medium D -liuosta konsentroituu solususpensioon, niin että lopullinen

maljaustilavuus on 0,5 ml / peitinlasia (yhteensä 4 peitinlasia) tai 2 ml / pieni viljelypullo.

3. Inkuboi viljelmiä ilman häiriöitä 37 °C:ssa 5–8-prosenttisesti CO₂-ilmakehässä.
4. Lisää viljelmiin 2 ml CHANG Medium D -liuosta päivänä 2.
5. Viljelmien kasvu on tarkistettava 4–5 päivän kuluttua. Viljelmiä on ravittava, kun kasvu on havaittu. Ravitse viljelmiä poistamalla koko viljelmäsupernatantti ja korvaamalla se 2 ml:lla tuoretta CHANG Medium D -liuosta. On suositeltavaa, että viljelmiä ravitaan tämän jälkeen 2 päivän välein.
6. Tarkista viljelmien kasvu päivänä 5 tai sen jälkeen. Kerää solut, kun havaitaan riittävästi pesäkkeitä.
7. Parhaat tulokset saadaan, kun viljelmiä ravitaan CHANG Medium D -liuoksella keräämistä edeltävänä päivänä.

CHANG Medium D -liuoksen käyttäminen primaariviljelmiin: Pullomenetelmät

1. Konsentri solut sentrifugoimalla lapsivettä pienellä nopeudella.
2. Suspendoi solusakka pieneen määrään potilaan omaa lapsivettä. Jos esimerkiksi 10 ml:n lapsivesinäyte sentrifugoidaan, aspiroi supernatantia pois niin, että solusakan yläpuolelle jää 1,0 ml, ja suspendoi näyte uudelleen. Lisää 4 ml CHANG Medium D -liuosta lopulliseen maljaustilavuuteen 5 ml / viljelypullo.
3. Inkuboi viljelmiä ilman häiriöitä 37 °C:ssa 5–8-prosenttisesti CO₂-ilmakehässä.
4. Tarkista kasvu päivänä 5. Vaihda elatusaine tuoreeseen CHANG Medium D -liuokseen ja kerää solut, jos havaitaan riittävästi solukasvuja.
5. Tarkista viljelmien kasvu ja vaihda elatusaine sen jälkeen kokonaan uuteen joka päivä, kunnes havaitaan riittävästi pesäkkeitä ja ne ovat valmiitkerättyviksi.
6. Parhaat tulokset saadaan, kun viljelmiä ravitaan CHANG Medium D -liuoksella keräämistä edeltävänä päivänä.

CHANG Medium D -liuoksen käyttäminen siirrostettujen lapsivesisolujen kasvattamiseen: Siirrosta solut käsittelemällä viljelmät trypsiinillä (tai pronaasilla jne.) kuten normaalistikin, kun soluja kasvatetaan perinteisessä elatusaineessa. Proteaasikäsitellyä on kuitenkin valvottava huolella. CHANG Medium D -liuoksessa kasvatetut lapsivesisolut ovat herkempiä proteaasikäsitellyille kuin perinteisessä elatusaineessa kasvatetut lapsivesisolut. Kasvatusten menetelmää on ehkä muutettava tämän huomioon ottamiseksi.

Viljelmien ravitsemiseen käytettävän liuoksen pH:n on oltava 6,8–7,2 (ts. elatusaineen värin on oltava hieman kellertävä tai lohenpunainen), pH:ta voidaan säätää helposti asettamalla elatusaine 5–8 %:n CO₂-lämpökaappiin korkki hieman löysällä noin 30 minuutin ajaksi.

Huomautus: CHANG Medium D -liuoksen muodostuu usein kalsiumoksalaaattikiteitä. Näiden kiteiden esiintymisen ei ole osoitettu heikentävän tuotteen toimintakykyä millään tavoin.

CHANG Medium D sisältää gentamysiinisulfaatti-antibioottia. Tarkoituksenmukaisia varokeinoja tulee käyttää sen varmistamiseksi, ettei potilas ole herkistynyt kyseiselle antibiootille.

SÄILYTTÄMINEN JA STABIILIUUS

Säilytä CHANG Medium D pakastettuna -10 °C:ssa. Käyttämätön CHANG Medium D -liuos voidaan pakastaa uudelleen tai säilyttää 2–8 °C:ssa.

Suojaa loistevalaisimen valolta.

Katso täsmällinen viimeinen käyttöpäivä pulloetiketitä. CHANG Medium D voidaan pakastaa uudelleen enintään 2 kertaa, ja sitä voidaan säilyttää sulatettuna 2–8 °C:ssa 14 päivän ajan sen toimintaan vaikuttamatta. Yli 14 päivän säilytysaika ei suositella.

VAROITIMET JA VAROITUKSET

Tämä väline on tarkoitettu sellaisen henkilöstön käytettäväksi, joka on koulutettu menetelmiin, joihin kuuluu välineen tarkoitettu, käyttöaiheen mukainen käyttö.

Älä käytä pulloa, jos sen steriili pakkaus ei ole ehjä.

Älä käytä CHANG Medium D -liuosta etiketissä osoitetun viimeisen käyttöpäivän jälkeen.

LATVISKI

LIETOŠANAS INDIKĀCIJA

„CHANG Medium D” (Čanga barotni D) ar gentamicīnu var lietot tālāk minētajos gadījumos.

1. Augļa ūdens šūnu primārā kultivēšanā.
2. Pārsetū augļa ūdens šūnu audzēšanā.
3. Kaulu smadzeņu šūnu kultivēšanā.
4. Kompaktajiem amnija audiem, kas iegūti horiā bārktīņu parauga izmeklēšanā.

Šī barotne ir paredzēta izmantošanai CO₂ inkubatoros (kultūras līdzsvaro 5–8 % CO₂ vidē).

Galīgajam pH līmenim jābūt 6,8–7,2.

IERĪCES APRAKSTS

„CHANG Medium D” izstrādājā cilvēka augļa ūdens šūnu primārajai kultivēšanai, lai veiktu karioטיפو noteikšanas un citus antenatālos ģenētiskos testus. Šis sastāvs ir optimizēts izmantošanai gan ar flakona, gan *in situ* metodēm. „CHANG Medium D” satur antibiotiku gentamicīna sulfātu (50 µg/ml).

SASTĀVDAĻAS

Aminoskābes	Insulīns	Vitamiņi un mikroelementi
Alanīns	Progesterons	Askorbīnskābe
Arginīns	Tetosterons	Folijskābe
Asparāģīns	Bēta estradiols	Nikotīnamīds
Asparāģīnskābe	Hidrokortizons	Riboflavīns
Cisteīns		Tiāmiņš
Glutamīnskābe	Citas	Pantotēnskābe
Glutamīns	Biotīns	Kobalamīns
Glicīns	Etilspirts	Pyridoksīns
Histiidīns	Tironīns	
Izoleicīns	Antioksidants	Sāļi un ioni
Leicīns	Tioktīnskābe	Nātrija hlorīds
Lizīns		Nātrija selēnts
Meloniņš	Nukleīnskābes	Kalcija hlorīds
Penilalanīns	Dezoksadenozīns	Holīna hlorīds
Prolīns	Dezoksicitidīns	Kālija hlorīds
Serīns	Dezoksiguanozīns	Magnija sulfāts
Treonīns	Adenoziņš	Nātrija fosfāts
Triptofāns	Citidīns	
Tirozīns	Gvanoziņš	Bufersķīdumus
Vaiņš	Timidīns	Nātrija bikarbonāts
	Urdiņš	
Proteīni, hormoni un augšanas faktori	Enerģijas substrāti	Antibiotikas
Liellopu embriju serums (<i> fetal bovine serum – FBS</i>)	Glikoze	Gentamicīna sulfāts
Liellopu teļu serums	Piruvāts	Ūdens
Fibroblastu augšanas faktors (<i>fibroblast growth factor – FGF</i>)	Inozitols	Injekciju ūdens (<i>WFI</i>) kvalitāte

KVALITĀTES NODROŠINĀŠANA

„CHANG Medium D” ražošanā izmantotais serums pārbaudīts, lai noteiktu virusālo piesārņojumu, saskaņā ar nosacījumiem Federālo normatīvo aktu kodeksa (*Code of Federal Regulation – CFR*) 9. sadaļas 113.53. nodaļā. Tas ir testēts arī mikoplazmai. „CHANG Medium D” ir sterilizēta, filtrējot caur 0,1 mikronu filtru. „CHANG Medium D” paraugi pārbaudīti, lai noteiktu iespējamo baktēriālo piesārņojumu, atbilstoši sterilitātes testēšanas protokolam, kas aprakstīts pašreizējā ASV Farmakopejas (*USP*) sterilitātes testā <71>.

SAGATAVOŠANA LIETOŠANAI

1. Ātri atkausējiet „CHANG Medium D”, pudeli virpintot 37 °C ūdens vannā.
2. „CHANG Medium D” satur antibiotiku gentamicīna sulfātu (50 µg/ml). Ja vēlams, var pievienot papildu antibiotikas.

„CHANG MEDIUM D” DALĪŠANA ALIKVOTAJĀS DAĻĀS

1. Atkausējiet „CHANG Medium D” atbilstoši norādījumiem.
2. Aseptiskā veidā sadaliet piemērotā lieluma alikvotāžs daļās un atkārtoti sasaldējiet.
3. Alikvotās daļas atkausējiet 37 °C ūdens vannā, kad esat gatavs tās lietot.

LIETOŠANAS NORĀDĪJUMI

„CHANG Medium D” lietošana primārajai kultivēšanai: *in situ* metodes

1. Centrifugējiet augļa ūdeni ar nelielu ātrumu, lai koncentrētu šūnas.

2. Šūnu lodīti atkārtoti suspendējiet nelielā daudzumā paša pacienta augļa ūdens. Piemēram, aspirējiet supernatantu no 10 ml augļa ūdens centrifugātā līdz 0,5 ml vīrs šūnu lodītes un atkārtoti suspendējiet. Koncentrējiet šūnu suspensijai pievienojot pietiekamu daudzumu „CHANG Medium D”, lai iegūtu galīgo uzšēšanas daudzumu 0,5 ml uz katru segstiklīņu (pavisam 4 segstiklīņi) vai 2 ml uz flakonu.
3. Netraucēti inkubējiet kultūras 37 °C temperatūrā 5–8 % CO₂ vidē.
4. 2. dienā izpludiniet kultūras, pievienojot 2 ml „CHANG Medium D”.
5. Pēc 4–5 dienām jāpārbauda kultūru augšana. Tiklīdz novēro augšanu, kultūras jāpapildina. Papildiniet kultūras, nopemot visu kultūras supernatantu un aizvietojoj to ar 2 ml svaigas „CHANG Medium D”. Pēc tam ieteicams kultūras papildināt ik pēc 2 dienām.
6. 5. dienā/vai pēc tās pārbaudiet kultūru augšanu un, kad novēro pietiekama apjoma kolonijas, ievāciet šūnas.
7. Vislabākos rezultātus iegūst, ja kultūras papildina ar „CHANG Medium D” vienu dienu pirms ievākšanas.

„CHANG Medium D” lietošana primārajai kultivēšanai: flakona metodes

1. Centrifugējiet augļa ūdeni ar nelielu ātrumu, lai koncentrētu šūnas.
2. Šūnu lodīti atkārtoti suspendējiet nelielā daudzumā paša pacienta augļa ūdens. Piemēram, aspirējiet supernatantu no 10 ml augļa ūdens centrifugātā līdz 1 ml vīrs šūnu lodītes un atkārtoti suspendējiet. Pievienojiet 4 ml „CHANG Medium D”, lai kopējais daudzums katrā flakonā būtu 5 ml.
3. Netraucēti inkubējiet kultūras 37 °C temperatūrā 5–8 % CO₂ vidē.
4. 5. dienā pārbaudiet augšanu. Barotni aizstājiet ar svaigu „CHANG Medium D” un, ja novēro pietiekamu šūnu augšanu, ievāciet tās.
5. Pēc tam katru dienu pārbaudiet kultūru augšanu un pilnībā nomainiet barotni, līdz novēro pietiekama apjoma kolonijas un šūnas ir gatavas ievākšanai.
6. Vislabākos rezultātus iegūst, ja kultūras papildina ar „CHANG Medium D” vienu dienu pirms ievākšanas.

„CHANG Medium D” izmantošana pārsetu augļa ūdens šūnu audzēšanai

Lai pārsetu šūnas, kultūras apstrādājiet ar tripsīnu (vai pronāzi u. c.), kā to parasti darītu, ja šūnas tiktu audzētas standartā barotnē. Tomēr apstrāde ar proteāzi rūpīgi jākontrolē. Barotnē „CHANG Medium D” audzētām augļa ūdens šūnām ir nosliece uz lielāku jutību pret apstrādi ar proteāzi nekā standartā barotnē audzētām augļa ūdens šūnām. Lai šo ņemtu vērā, iespējams, jāpārveido protokols.

Kultūru papildināšanai izmantotās barotnes pH jābūt 6,8–7,2 (t. i., barotnei jābūt nedaudz iedzeltenā laša krāsā), pH līmenis ir viegli pielāgojams, barotnes flakonu ar nedaudz vajlgāk uzliktu aizbāzni uz apmēram 30 minūtem ievietojoj 5–8 % CO₂ inkubatorā.

Piezīme: barotnē „CHANG Medium D” parasti veidojas kalcija oksalāta kristāli. Nav novērots, ka šie kristāli radītu jēbkādu nevēlamu ietekmi uz produkta veiktspēju.

„CHANG Medium D” satur antibiotiku gentamicīna sulfātu. Lai izvairītos no paaugstinātas pacienta jutības pret šo antibiotiku, jāveic atbilstoši piesardzības pasākumi.

GLABĀŠANA UN STABILITĀTE

„CHANG Medium D” glabāt saldētā –10 °C temperatūrā. Neizlieto „CHANG Medium D” var saldēt atkārtoti vai glabāt 2–8 °C temperatūrā.

Aizsargājiet no fluorescējošas gaismas.

Attiecīgo derīguma termiņu skatīt pudeles etiķetē. „CHANG Medium D” drīkst saldēt atkārtoti ne vairāk par 2 reizēm un glabāt atkausētu 2–8 °C temperatūrā 14 dienas, neietekmējot tās funkciju. Glabāt ilgāk par 14 dienām nav ieteicams.

PIESARDZĪBAS PASĀKUMI UN

BRĪDINĀJUMI

Šī ierīce ir paredzēta procedūras, arī tādās, kurām šī ierīce ir paredzēta, apmācīta personāla lietošanai.

Nelietojiet nevienu pudeli, kurai ir bojāts sterilaiz iesaiņojums.

„CHANG Medium D” nelietot pēc derīguma termiņa, kas norādīts etiķetē.

NEDERLANDS

INDICATIE VOOR GEBRUIK

CHANG Medium D met gentamicine kan worden gebruikt voor de volgende toepassingen:

1. de primaire kweek van vruchtwatercellen
2. het groeien van gepasseerde vruchtwatercellen
3. de kweek van beenmergcellen
4. vast amnionweefsel van een chorionvillusbiopsie.

Dit medium is bedoeld voor gebruik in CO₂-incubators (kweken geëquilibreerd met 5%-8% CO₂-atmosfeer).

De uiteindelijke pH moet tussen 6,8 en 7,2 liggen.

BESCHRIJVING VAN HET HULPMIDDEL

CHANG Medium D is ontwikkeld voor de primaire kweek van menselijke vruchtwatercellen voor gebruik bij karyotypering en ander prenataal genetisch onderzoek. Deze formule is geoptimaliseerd voor zowel fles- als in situ-methodes. CHANG Medium D bevat het antibioticum gentamicinesulfaat (50 µg/ml).

COMPONENTEN

<u>Aminozuren</u>	Testosteron	Nicotinamide
Alanine	Bèta-oestradiol	Riboflavine
Arginine	Hydrocortison	Thiamine
Asparagine		Pantotheenzuur
Asparaginezuur	<u>Overige</u>	Cobalamine
Cysteïne	Biotine	Pyridoxine
Glutaminezuur	Ethylalcohol	
Glutamine	Thyronine	<u>Zouten en ionen</u>
Glycine		Natriumchloride
Histidine	<u>Antioxidant</u>	Natriumseleniet
Isoleucine	Alfa-liponzuur	Calciumchloride
Leucine		Cholinechloride
Lysine	<u>Nucleïnezuren</u>	Kaliumchloride
Methionine	Deoxyadenosine	Magnesiumsulfaat
Fenylalanine	Deoxycytidine	Natriumfosfaat
Proline	Deoxyguanosine	
Serine	Adenosine	<u>Buffer</u>
Treonine	Cytidine	Natrium-
Tryptofaan	Guanosine	bicarbonaat
Tyrosine	Thymidine	
Valine	Uridine	<u>Antibioticum</u>
		Gentamicine-
<u>Eiwitten,</u>	<u>Energiesubstraten</u>	sulfaat
<u>hormonen en</u>	<u>Glucose</u>	
<u>groeifactoren</u>	Pyruvaat	<u>Water</u>
Foetaal	Inositol	Farmaceutisch
runderserum		kwaliteitswater
(FBS)	<u>pH-indicator</u>	(WFI)
Runderkalfs-	Fenolrood	
serum		
Fibroblast	<u>Vitaminen en</u>	
groeifactor (FGF)	<u>spoorelementen</u>	
Insuline	Ascorbinezuur	
Progesteron	Foliumzuur	

KWALITEITSBORGING

STERILITEIT

Het serum dat wordt gebruikt bij de productie van CHANG Medium D is getest op virale besmetting volgens CFR Title 9 Part 113.53. Het is ook gescreend op mycoplasma. CHANG Medium D is gesteriliseerd door middel van filtratie door een 0,1 µm-filter. Monsters van CHANG Medium D zijn getest op mogelijke bacteriologische besmetting volgens het steriliteitstestprotocol beschreven in de huidige Amerikaanse Farmacopee (USP) steriliteitstest <71>.

VOORBEREIDING OP HET GEBRUIK

1. Ontdooi CHANG Medium D snel door de fles in een waterbad van 37 °C rond te draaien.
2. CHANG Medium D bevat het antibioticum gentamicinesulfaat (50 µg/ml). Aanvullende antibiotica kunnen desgewenst worden toegevoegd.

OPDELEN VAN CHANG MEDIUM D

1. Ontdooi CHANG Medium D volgens de aanwijzingen.
2. Verdeel op aseptische wijze in praktische hoeveelheden en vries deze opnieuw in.
3. Ontdooi de delen net voor gebruik in een waterbad van 37 °C.

GBRUIKSAANWIJZING

Gebruik van CHANG Medium D voor primaire kweken: *in situ*-methode

1. Centrifugeer het vruchtwater op lage snelheid om de cellen te concentreren.

2. Resuspendeer de celpellet in een kleine hoeveelheid eigen vruchtwater van de patiënt. Voorbeeld: Aspireer het supernatant van 10 ml gecentrifugeerd vruchtwater tot 0,5 ml boven de celpellet en resuspendeer. Voeg voldoende CHANG Medium D aan de geconcentreerde celsuspensie toe tot een eindvolume van 0,5 ml per dekglasje (4 dekglasjes in totaal) of 2 ml per flesje is verkregen.
3. Zet de kweken ongestoord in de incubator bij 37 °C en 5%-8% CO₂-atmosfeer.
4. Bedek de kweken op dag 2 volledig door 2 ml CHANG Medium D toe te voegen.
5. Controleer na 4 à 5 dagen of de kweken zijn gegroeid. Nadat is vastgesteld dat de kweken groeien, moeten ze worden gevoed. Voed de kweken door al het kweeksupernatant te verwijderen en te vervangen door 2 ml vers CHANG Medium D. Aanbevolen wordt de kweken daarna elke twee dagen te voeden.
6. Controleer de kweken op of na dag 5 op groei en oogst als er voldoende koloniën worden waargenomen.
7. De beste resultaten worden verkregen als de kweken op de dag vóór het oogsten met CHANG Medium D worden gevoed.

Gebruik van CHANG Medium D voor primaire kweken: flesmethode

1. Centrifugeer het vruchtwater op lage snelheid om de cellen te concentreren.
2. Resuspendeer de celpellet in een kleine hoeveelheid eigen vruchtwater van de patiënt. Voorbeeld: Aspireer het supernatant van 10 ml gecentrifugeerd vruchtwater tot 1 ml boven de celpellet en resuspendeer. Voeg 4 ml CHANG Medium D toe tot een totaal volume van 5 ml per fles.
3. Zet de kweken ongestoord in de incubator bij 37 °C en 5%-8% CO₂-atmosfeer.
4. Controleer de groei op dag 5. Vervang het medium door vers CHANG Medium D en oogst als er voldoende celgroei is waargenomen.
5. Controleer daarna elke dag of de kweken gegroeid zijn en vervang het medium volledig tot er voldoende koloniën worden waargenomen die kunnen worden geoogst.
6. De beste resultaten worden verkregen als de kweken op de dag vóór het oogsten met CHANG Medium D worden gevoed.

Gebruik van CHANG Medium D voor het groeien van gepasseerde vruchtwatercellen:

Passeer de cellen door de kweken met trypsine (of pronase etc.) te behandelen, zoals u dat normaal gesproken zou doen bij cellen die in een traditioneel medium gekweekt zijn. Proteasebehandeling dient echter zorgvuldig in de gaten te worden gehouden. Vruchtwatercellen die in CHANG Medium D zijn gekweekt, zijn vaak gevoeliger voor proteasebehandeling dan vruchtwatercellen die in een traditioneel medium zijn gekweekt. Houd hier rekening mee en wijzig zo nodig uw protocol.

De pH van het medium dat wordt gebruikt om de kweken te voeden, moet tussen 6,8 en 7,2 liggen (d.w.z. dat het medium een enigszins gelige zalmkleur moet hebben). De pH-waarde kan eenvoudig worden aangepast door het medium met een iets losgedraaide dop gedurende circa 30 minuten in een 5%-8% CO₂-incubator te zetten.

NB: Vaak vormen er zich calciumoxalaatkristallen in CHANG Medium D. Uit onderzoek is gebleken dat de aanwezigheid van deze kristallen geen nadelige invloed heeft op de prestaties van het product.

CHANG Medium D bevat het antibioticum gentamicinesulfaat. Passende voorzorgsmaatregelen dienen te worden genomen om er zeker van te zijn dat de patiënt niet gevoelig is voor dit antibioticum.

BEWAREN EN STABILITEIT

Bewaar CHANG Medium D bevroren bij een temperatuur van -10 °C. Ongebruikt CHANG Medium D kan opnieuw worden ingevroren of worden bewaard bij een temperatuur van 2 °C tot 8 °C.

Bescherm tegen fluorescentielicht.

Raadpleeg het etiket op de fles voor de specifieke houdbaarheidsdatum. CHANG Medium D mag maximaal tweemaal opnieuw worden ingevroren en kan ontdooit 14 dagen worden bewaard bij een temperatuur van 2 °C tot 8 °C zonder dat dit de werking beïnvloedt. Het wordt afgeraden het product langer dan 14 dagen te bewaren.

VOORZORGSMATREGELEN EN WAARSCHUWINGEN

Dit hulpmiddel is bedoeld voor gebruik door personeel dat opgeleid is in procedures waaronder de aangegeven toepassing waarvoor het hulpmiddel is bedoeld.

Gebruik geen flessen waarvan de steriele verpakking beschadigd is.

Gebruik CHANG Medium D niet na de houdbaarheidsdatum op het etiket.

PRZEZNACZENIE

Pożywka CHANG Medium D z gentamycyną może być stosowana w przypadku:

1. hodowli pierwotnej komórek płynu owodniowego,
2. wzrostu pasażowanych komórek płynu owodniowego,
3. hodowli komórek szpiku kostnego,
4. litej tkanki owodniowej z biopsji kosmków kosmówki.

Tę pożywkę zaprojektowano do użytku w inkubatorach z atmosferą CO₂ (hodowle doprowadzone do równowagi w atmosferze 5%–8% CO₂).

Końcowa wartość pH musi wynosić 6,8–7,2.

OPIS WYROBU

Pożywkę CHANG Medium D opracowano dla hodowli pierwotnej ludzkich komórek płynu owodniowego przeznaczonych do kariotypowania i wykonywania innych prenatalnych testów genetycznych. Niniejszy skład zoptymalizowano dla metod hodowli w butelkach oraz metod in situ. Pożywka CHANG Medium D zawiera antybiotyki w postaci siarczanu gentamycyny (50 µg/ml).

SKŁADNIKI

<u>Aminokwasy</u>	Testosteron	<u>Witaminy</u>
Alanina	Beta-estradiol	<u>i pierwiastki</u>
Arginina	Hydrokortyzon	<u>śladowe</u>
Asparagina		Kwas askorbinowy
Kwas	<u>Inne</u>	Kwas foliowy
asparaginowy	Biotyna	Nikotynamid
Cysteina	Alkohol etylowy	Ryboflawina
Kwas glutaminowy	Tyronina	Tiamina
Glutamina		Kwas
Glicyna	<u>Antyoksydant</u>	pantotenowy
Histydyna	Kwas tiooktanowy	Kobalamina
Izoleucyna		Pirydoksyna
Leucyna	<u>Kwasy nukleinowe</u>	
Lizyna	Deoksyadenozyna	<u>Sole i jony</u>
Metionina	Deoksytydyna	Chlorek sodu
Fenylalanina	Deoksyguanozyna	Selenian sodu
Prolina	Adenozyna	Chlorek wapnia
Seryna	Cytydyna	Chlorek cholinu
Treonina	Guanozyna	Chlorek potasu
Tryptofan	Tymidyna	Siarczan
Tyrozyna	Urydyna	magnezu
Walina		Fosforan sodu
	<u>Substraty</u>	<u>Bufor</u>
<u>Białka, hormony</u>	<u>energetyczne</u>	Wodorowęglan
<u>i czynniki wzrostu</u>	<u>Glukoza</u>	sodu
Płodowa surowica	Pirogromian	
bydłęca (FBS)	Inozytol	<u>Antybiotyki</u>
Surowica cielęca		Siarczan
Czynniki wzrostu	<u>Wskaźnik pH</u>	gentamycyny
fibroblastów (FGF)	Czerwień	
Insulina	fenolowa	<u>Woda</u>
Progesteron		Woda o jakości
		WFI

ZAPEWNIANIE JAKOŚCI

STERYLNOŚĆ

Surowicę używaną do produkcji pożywki CHANG Medium D przetestowano pod kątem zanieczyszczenia wirusowego zgodnie z Kodeksem Przepisów Federalnych (CFR), tytuł 9, część 113.53. Wykonano również badanie przesiewowe pod kątem zanieczyszczenia mykoplazmą. Pożywkę CHANG Medium D sterylizowano poprzez filtrację przez filtr o średnicy porów 0,1 mikrona. Próbkę pożywki CHANG Medium D są poddawane testom pod kątem możliwego zanieczyszczenia bakteryjnego zgodnie z protokołem badania sterylności opisanym w najnowszym badaniu sterylności wg Farmakopei Amerykańskiej (USP) <71>.

PRZYGOTOWANIE DO UŻYCIA

1. Szybko rozmrozić pożywkę CHANG Medium D, obracając butelkę ruchem wirowym w łaźni wodnej nastawionej na temperaturę 37°C.
2. Pożywka CHANG Medium D zawiera antybiotyki w postaci siarczanu gentamycyny (50 µg/ml). W razie potrzeby można dodać dodatkowe antybiotyki.

ROZDZIELANIE POŻYWKI CHANG MEDIUM D NA PORCJE

1. Rozmrozić pożywkę CHANG Medium D zgodnie z instrukcjami.
2. W sposób aseptyczny rozdzielić pożywkę na porcje o odpowiednim rozmiarze, a następnie zamrozić ponownie.
3. Gdy porcje będą gotowe do użycia, rozmrozić je w łaźni wodnej nastawionej na temperaturę 37°C.

INSTRUKCJA UŻYCIA

Stosowanie pożywki CHANG Medium D dla hodowli pierwotnych: Metody *in situ*

1. Odwirować płyn owodniowy przy niskiej prędkości, aby zatężyć komórki.
2. Zawiesić osad komórkowy w małej objętości płynu owodniowego pacjentki. Na przykład zaaspirować nadsącz z 10 ml odwirowanego płynu owodniowego do 0,5 ml nad osadem komórkowym, a następnie zawiesić osad. Dodać wystarczającą ilość pożywki CHANG Medium D do zatężonej zawiesiny komórkowej, aby uzyskać końcową objętość posiewu równą 0,5 ml na szkiełko nakrywkowe (łącznie 4 szkiełka nakrywkowe) lub 2 ml na butelkę hodowlaną.
3. Inkubować hodowlę w temperaturze 37°C w atmosferze 5%–8% CO₂, nie zakłócając ich.
4. W dniu 2. zalać hodowlę, dodając 2 ml pożywki CHANG Medium D.
5. Po 4–5 dniach sprawdzić wzrost hodowli. Po zaobserwowaniu wzrostu należy zasilić hodowlę pożywką. Zasilać hodowlę pożywką, usuwając cały nadsącz hodowli i zastępując go 2 ml świeżej pożywki CHANG Medium D. Po wykonaniu tej czynności zalecane jest zasilanie hodowli pożywką co 2 dni.
6. Sprawdzić wzrost hodowli w 5. dniu lub w późniejszych dniach i zebrać komórki, jeśli zaobserwowano wystarczającą liczbę kolonii.
7. Najlepsze wyniki otrzymywano, gdy zasilano hodowlę pożywką CHANG Medium D dzień przed zbiorem.

Stosowanie pożywki CHANG Medium D dla hodowli pierwotnych: metody hodowli w butelkach hodowlanych

1. Odwirować płyn owodniowy przy niskiej prędkości, aby zatężyć komórki.
2. Zawiesić osad komórkowy w małej objętości płynu owodniowego pacjentki. Na przykład zaaspirować nadsącz z 10 ml odwirowanego płynu owodniowego do 1 ml nad osadem komórkowym, a następnie zawiesić osad. Dodać 4 ml pożywki CHANG Medium D do całkowitej objętości równej 5 ml na butelkę.
3. Inkubować hodowlę w temperaturze 37°C w atmosferze 5%–8% CO₂, nie zakłócając ich.
4. Sprawdzić wzrost hodowli w 5. dniu. Zmienić pożywkę na świeżą pożywkę CHANG Medium D i zebrać komórki, jeśli zaobserwowano wystarczający wzrost komórek.
5. Po wykonaniu tej czynności codziennie sprawdzać wzrost hodowli i całkowicie wymieniać pożywkę do czasu zaobserwowania wystarczającej liczby kolonii gotowych do zbioru.
6. Najlepsze wyniki otrzymywano, gdy zasilano hodowlę pożywką CHANG Medium D dzień przed zbiorem.

Stosowanie pożywki CHANG Medium D do wzrostu pasażowanych komórek płynu owodniowego:

Aby wykonać pasaż komórek, poddać hodowlę działaniu trypsyny (lub pronazy itp.), w taki sam sposób, jak w przypadku komórek rosnących w pożywce standardowej. Jednakże należy ściśle monitorować komórki poddawane działaniu proteazy. Komórki płynu owodniowego rosnące w pożywce CHANG Medium D zwykle są bardziej wrażliwe na działanie proteazy niż komórki płynu owodniowego rosnące w pożywce standardowej. W celu uwzględnienia tego faktu może być konieczne wprowadzenie zmian w protokole.

Wartość pH pożywki używanej do zasilania hodowli musi mieścić się w zakresie 6,8–7,2 (tzn. kolor pożywki musi być lekko żółtawo-łososiowy). Wartość pH można łatwo wyregulować, umieszczając pożywkę w butelce z lekko odkręconą zakrętką w inkubatorze z atmosferą 5%–8% CO₂ na około 30 minut.

Uwaga: W pożywce CHANG Medium D często tworzą się kryształy szczawianu wapnia. Nie wykazano, aby obecność tych kryształów wpływała negatywnie na właściwości produktu.

Pożywka CHANG Medium D zawiera antybiotyki w postaci siarczanu gentamycyny. Należy zastosować odpowiednie środki ostrożności w celu upewnienia się, że pacjentka nie jest uczulona na tego rodzaju antybiotyki.

PRZECHOWYWANIE I STABILNOŚĆ

Przechowywać pożywkę CHANG Medium D zamrożoną w temperaturze -10°C. Niezużytą pożywkę CHANG Medium D można zamrozić ponownie lub przechowywać w temperaturze od 2°C do 8°C.

Chronić przed światłem fluorescencyjnym.

Termin ważności jest określony na etykiecie butelki. Pożywkę CHANG Medium D można zamrażać ponownie maksymalnie 2 razy i przechowywać rozmrożoną w temperaturze od 2°C do 8°C przez 14 dni bez negatywnego wpływu na jej działanie. Przechowywanie pożywki przez okres dłuższy niż 14 dni nie jest zalecane.

ŚRODKI OSTROŻNOŚCI I OSTRZEŻENIA

Ten wyrób jest przeznaczony do użytku przez personel wykwalifikowany w dziedzinie procedur obejmujących wskazane zastosowanie, do którego wyrób ten jest przeznaczony.

Nie korzystać z butelek, w przypadku których sterylne opakowanie zostało naruszone.

Nie używać pożywki CHANG Medium D po upływie terminu ważności podanego na etykiecie.

ROMÂNĂ

INDICAȚIE DE UTILIZARE

CHANG Medium D cu gentamicină se poate utiliza pentru următoarele întrebuițări:

1. cultura primară a celulelor din lichidul amniotic
2. creșterea celulelor din lichidul amniotic pasajate
3. cultura celulelor din măduva osoasă
4. țesut amniotic solid din probele de vili chorionici colectate.

Acest mediu a fost proiectat pentru utilizare în incubatoare cu CO₂ (culturi echilibrate cu o atmosferă cu 5%-8% CO₂).

pH-ul final trebuie să fie cuprins între 6,8 și 7,2.

DESCRIEREA DISPOZITIVULUI

CHANG Medium D a fost realizat pentru cultura primară a celulelor din lichidul amniotic uman în vederea utilizării pentru cariotipare și alte teste genetice prenatale. Formula a fost optimizată pentru metodologii atât cu flacon, cât și in situ. CHANG Medium D conține antibioticul sulfat de gentamicină (50 μg/ml)

COMPONENTE

<u>Aminoacizi</u>	Beta-estradiol	Nicotinamidă
Alanină	Hydrocortizon	Riboflavină
Arginină		Tiamină
Asparagină	<u>Altul</u>	Acid pantotenic
Acid aspartic	Biotină	Cobalamină
Cisteină	Alcool etilic	Piridoxină
Acid glutamic	Tironină	
Glutamină		<u>Săruri și ioni</u>
Glicină	<u>Antioxidant</u>	Clorură de sodiu
Histidină	Acid tioctic	Selenit de sodiu
Izoleucină		Clorură de calciu
Leucină	<u>Acizi nucleici</u>	Clorură de colină
Lizină	Deoxiadenozină	Clorură de potasiu
Metionină	Deoxicitidină	Sulfat de magneziu
Fenilalanină	Deoxiguanozină	Fosfat de sodiu
Prolină	Adenozină	
Serină	Citidină	<u>Soluție tampon</u>
Treonină	Guanozină	Bicarbonat de sodiu
Triptofan	Timidină	
Tirozină	Uridină	
Valină		<u>Antibiotic</u>
	<u>Substraturi energetice</u>	Sulfat de gentamicină
<u>Proteine, hormoni și factori de creștere</u>	<u>Glucoză</u>	
Ser fetal bovin (SFB)	Piruvat	<u>Apă</u>
Ser bovin de vițel	Inozitol	Calitate WFI (water for injection)
Factor de creștere a fibroblaștilor (FCF)		[apă sterilă pentru injecții]
Insulină	<u>Vitamine și oligoelemente</u>	
Progesteron	Acid ascorbic	
Testosteron	Acid folic	

ASIGURAREA CALITĂȚII

STERILITATE

Serul utilizat la producerea CHANG Medium D a fost testat pentru a nu fi contaminat viral, în conformitate cu CFR Titlul 9 Partea 113.53. Acesta a fost de asemenea analizat pentru detectarea contaminării cu mycoplasma. CHANG Medium D este sterilizat prin filtrare printr-un filtru de 0,1 microni. Probe de CHANG Medium D sunt testate pentru a nu prezenta o posibilă contaminare bacteriologică urmând protocolul de testare a sterilității descris în testul de sterilitate actual prevăzut de Farmacopeea Americană <71>.

PREGĂTIREA PENTRU UTILIZARE

1. Dezghețați rapid CHANG Medium D prin agitarea flaconului într-o baie de apă la 37°C.
2. CHANG Medium D conține antibioticul sulfat de gentamicină (50 μg/ml). Dacă se dorește, se pot adăuga antibiotice suplimentare.

REPARTIZAREA ÎN PĂRȚI ALICOTE A CHANG MEDIUM D

1. Dezghețați CHANG Medium D în conformitate cu instrucțiunile.
2. Distribuți aseptice în părți alicote de mărime convenabilă și recongelați.
3. Dezghețați părțile alicote într-o baie de apă la 37°C atunci când sunt gata pentru utilizare.

INSTRUCȚIUNI DE UTILIZARE

Utilizarea CHANG Medium D pentru culturi primare: Metodologii *in situ*

1. Centrifugați lichidul amniotic la viteză redusă pentru a concentra celulele.

2. Resuspendați peleta cu celule într-un volum mic din propriul lichid amniotic al pacientei. De exemplu, aspirați supernatantul din 10 ml de lichid amniotic centrifugat la 0,5 ml deasupra peletei cu celule și resuspendați. Adăugați suficient CHANG Medium D la soluția de celule concentrată pentru a permite un volum de acoperire final de 0,5 ml per lamelă (în total 4 lamele) sau 2 ml per flaconaș.
3. Incubați culturile fără a le agita la 37°C într-o atmosferă de CO₂ 5%-8%.
4. Inundați culturile în ziua 2 prin adăugarea a 2 ml de CHANG Medium D.
5. După 4 sau 5 zile, culturile trebuie verificate pentru a se vedea dacă există creștere. Odată ce s-a observat creșterea, culturile trebuie hrănite. Hrăniți culturile prin îndepărtarea întregului supernatant al culturii și înlocuind-ul cu 2 ml de CHANG Medium D proaspăt. Se recomandă în continuare hrănirea culturilor la fiecare 2 zile.
6. Controlați culturile pentru a vedea dacă există creștere în/sau după ziua 5 și recoltați atunci când se observă suficiente colonii.
7. Cele mai bune rezultate se obțin atunci când culturile sunt hrănite cu CHANG Medium D în ziua anterioară recoltării.

Utilizarea CHANG Medium D pentru culturi primare: Metodologii cu flacon

1. Centrifugați lichidul amniotic la viteză redusă pentru a concentra celulele.
2. Resuspendați peleta cu celule într-un volum mic din propriul lichid amniotic al pacientei. De exemplu, aspirați supernatantul din 10 ml de lichid amniotic centrifugat la 1 ml deasupra peletei cu celule și resuspendați. Adăugați 4 ml de CHANG Medium D la un volum total de 5 ml per flacon.
3. Incubați culturile fără a le agita la 37°C într-o atmosferă de CO₂ 5%-8%.
4. Controlați dacă există creștere în ziua 5. Înlocuiți mediul cu CHANG Medium D proaspăt și recoltați dacă se observă creșterea unui număr suficient de celule.
5. Controlați culturile pentru a vedea dacă există creștere și înlocuiți în continuare complet mediul în fiecare zi până când se observă suficiente colonii și acestea sunt gata pentru recoltare.
6. Cele mai bune rezultate se obțin atunci când culturile sunt hrănite cu CHANG Medium D în ziua anterioară recoltării.

Utilizarea CHANG Medium D pentru creșterea celulelor din lichidul amniotic pasajate:

Pentru a pasaja celulele, tratați culturile cu tripsină (sau pronază etc.), așa cum ați proceda în mod normal atunci când celulele sunt crescute într-un mediu convențional. Cu toate acestea, tratamentul cu protează ar trebui monitorizat cu atenție. Celulele din lichidul amniotic crescute în CHANG Medium D tind să fie mai sensibile la tratamentul cu protează decât celulele din lichidul amniotic crescute într-un mediu convențional. Poate fi necesar să vă modificați protocolul pentru a lua în considerare acest lucru.

pH-ul mediului utilizat pentru a hrăni culturile trebuie să fie cuprins între 6,8 și 7,2 (adică mediul trebuie să aibă o culoare ușor gălbuie-somon). pH-ul poate fi ajustat cu ușurință punând mediul într-un incubator de 5%-8% CO₂ cu capacul ușor slăbit timp de aproximativ 30 de minute.

Notă: În CHANG Medium D se formează în mod obișnuit cristale de oxalat de calciu. Nu s-a demonstrat că prezența acestor cristale provoacă vreun efect nedorit asupra performanței produsului.

CHANG Medium D conține antibioticul sulfat de gentamicină. Trebuie luate măsurile de precauție adecvate pentru a vă asigura că pacientul nu este alergic la antibioticul acesta.

DEPOZITARE ȘI STABILITATE

Depozitați CHANG Medium D congelat la -10°C. CHANG Medium D neutilizat poate fi recongelat sau depozitat la o temperatură cuprinsă între 2°C și 8°C.

Protejați de lumina fluorescentă.

A se vedea eticheta flaconului pentru data de expirare specifică. CHANG Medium D poate fi recongelat de maximum 2 ori și depozitat dezghețat la o temperatură între 2°C și 8°C timp de 14 zile fără a-i fi afectată funcția. Nu se recomandă depozitarea mai mult de 14 zile.

PRECAUȚII ȘI AVERTISMENTE

Acest dispozitiv este conceput pentru a fi utilizat de către personal instruit în proceduri care includ întrebuițarea pentru care a fost conceput dispozitivul.

Nu utilizați niciun flacon al cărui ambalaj steril a fost deteriorat.

Nu utilizați CHANG Medium D după data expirării indicată pe eticheta individuală.

SVENSKA

INDIKATIONER

CHANG Medium D med gentamicin kan användas för följande tillämpningar:

- primärödling av celler i amnionvätska
- odling av celler från amnionvätska från passage
- odling av bennmärgsceller
- fast amnionvävnd från chorionvilliopiopsi.

Detta medium har tagits fram för användning i en CO₂-inkubator (kulturerne ekvibreras i en atmosfär med 5–8 % CO₂).

Det slutliga pH-värdet måste vara 6,8–7,2.

PRODUKTBESKRIVNING

CHANG Medium D har utveckats för primärödling av celler i human amnionvätska för karyotyp-bestämning och andra antenatala genetiska tester. Denna näringslösning har optimerats för både flask- och in situ-metoder. CHANG Medium D innehåller antibiotikat gentamicinsulfat (50 µg/ml).

KOMPONENTER

<u>Aminosyror</u>	Insulin	<u>Vitaminer och spårämnen</u>
Alanin	Progesteron	Askorbinsyra
Arginin	Testosteron	Folsyra
Asparagin	Betaöstradiol	Nikotinamid
Asparaginsyra	Hydrokortison	Riboflavin
Cystein		Tiamin
Glutaminsyra	<u>Övrigt</u>	Pantotensyra
Glutamin	Biotin	Kobalamin
Glycin	Etylalkohol	Pyridoxin
Histidin	Tyrosin	
Isoleucin		<u>Salter och joner</u>
Leucin	<u>Antioxidant</u>	Natriumklorid
Lysin	Tioktinsyra	Natriumselenit
Metionin		Kalciumklorid
Fenylalanin	<u>Nukleinsyror</u>	Kolinklorid
Prolin	Deoxiadenosin	Kaliumklorid
Serin	Deoxicytidin	Magnesiumsulfat
Treonin	Deoxyguanosin	Natriumfosfat
Tryptofan	Adenosin	
Tyrosin	Cytidin	<u>Buffert</u>
Valin	Guanosin	Natriumbikarbonat
	Thymidin	
	Uridin	<u>Antibiotikum</u>
<u>Proteiner, hormoner samt tillväxtfaktorer</u>	<u>Energisubstrat</u>	Gentamicinsulfat
Fetalt bovint serum (FBS)	<u>Glukos</u>	
Serum från kalvar	Pyruvat	<u>Vatten</u>
Fibroblast-tillväxtfaktor (FGF)	Inositol	Vatten för injektion (WFI)
	<u>pH-indikator</u>	
	Fenolrött	

KVALITETSSÄKRING

STERILITET

Det serum som används vid framställningen av CHANG Medium D har testats för viral kontamination enligt CFR titel 9 del 113.53. Det har också screenats för mykoplasma. CHANG Medium D har steriliserats med hjälp av filtrering genom ett 0,1 mikronfilter. Prover av CHANG Medium D testas för eventuell bakteriell kontamination enligt det sterilitetstestningsprotokoll som beskrivs i det aktuella USP-sterilitetstestet (USP Sterility test) <71>.

BEREDNING FÖR ANVÄNDNING

- Tina upp CHANG Medium D snabbt genom att snurra flaskan i ett 37 °C vattenbad.
- CHANG Medium D innehåller antibiotikat gentamicinsulfat (50 µg/ml). Ytterligare antibiotika kan tillsättas om så önskas.

ALIKVOTERING AV CHANG MEDIUM D

- Tina upp CHANG Medium D enligt anvisningarna.
- Fördela mediet aseptiskt i alikvoter av lämplig storlek och frys ner dem på nytt.
- Tina upp alikvoterna i ett 37 °C vattenbad när de ska användas.

BRUKSANVISNING

Användning av CHANG Medium D för primärkulturer: *in situ*-metoder

- Centrifugera amnionväskan på låg hastighet för att koncentrera cellerna.
- Resuspendera cellpelleten i en liten volym av patientens egen amnionvätska. Aspirera t.ex. supernatanten från 10 ml centrifugerad amnionvätska

- till 0,5 ml ovanför cellpelleten och resuspendera. Tillsätt tillräckligt med CHANG Medium D till den koncentrerade celluspensionen för att möjliggöra en slutlig plattvolym på 0,5 ml per täckglas (totalt 4 täckglas), eller 2 ml per flaska.
- Inkubera kulturerne, utan att störa dem, vid 37 °C i 5–8 % CO₂-atmosfär.
- Flöda kulturerne på dag 2 genom att tillsätta 2 ml CHANG Medium D.
- Efter 4–5 dagar bör kulturerne kontrolleras med avseende på växt. Näring bör tillföras till kulturerne så snart växt har observerats. Tillför näring till kulturerne genom att avlägsna all supernatant från kulturen och ersätta den med 2 ml färskt CHANG Medium D. Det rekommenderas att därefter tillföra näring till kulturerne varannan dag.
- Kontrollera kulturerne med avseende på växt på/ efter dag 5 och skörda dem när tillräckligt många kolonier observeras.
- Bästa resultat erhålls när kulturerne tillförs näring med CHANG Medium D dagen innan de skördas.

Användning av CHANG Medium D för primärkulturer: Metoder med flaska

- Centrifugera amnionväskan på låg hastighet för att koncentrera cellerna.
- Resuspendera cellpelleten i en liten volym av patientens egen amnionvätska. Aspirera t.ex. supernatanten från 10 ml centrifugerad amnionvätska till 1 ml ovanför cellpelleten och resuspendera. Tillsätt 4 ml CHANG Medium D till en total volym på 5 ml per flaska.
- Inkubera kulturerne, utan att störa dem, vid 37 °C i 5–8 % CO₂-atmosfär.
- Kontrollera kulturerne med avseende på växt på dag 5. Byt ut mediet mot färskt CHANG Medium D och skörda om tillräcklig cellväxt observeras.
- Kontrollera kulturerne med avseende på växt och byt därefter helt ut mediet varje dag tills tillräckligt med kolonier observeras och är klara att skördas.
- Bästa resultat erhålls när kulturerne tillförs näring med CHANG Medium D dagen innan de skördas.

Användning av CHANG Medium D för odling av celler från amnionvätska från passage: För passage av cellerna, behandla kulturerne med trypsin (eller pronas etc.) så som normalt sker vid odling av celler i konventionellt medium. Proteasbehandlingen bör dock noga övervakas. Celler från amnionvätska som odlas i CHANG Medium D tenderar att vara känsligare för proteasbehandling än celler från amnionvätska som odlas i konventionellt medium. Ert protokoll kan behöva modifieras för att ta hänsyn till detta.

pH i det medium som används som näringssubstrat till kulturerne måste vara mellan 6,8–7,2 (dvs. mediet måste ha en svagt gulaktig laxfärg). pH kan lätt justeras genom att mediet placeras i en 5–8 % CO₂-inkubator med locket något lossat, under cirka 30 minuter.

Anm: Kalciumoxalatkristaller bildas ofta i CHANG Medium D. Närvaron av dessa kristaller har inte visats inverka negativt på produktens funktion.

CHANG Medium D innehåller antibiotikat gentamicinsulfat. Aдекватa försiktighetsåtgärder ska vidtas för att säkerställa att patienten inte är allergisk mot detta antibiotikum.

FÖRVARING OCH HÅLLBARHET

Förvara CHANG Medium D fryst vid -10 °C. Oanvänt CHANG Medium D kan frysas ned på nytt eller förvaras vid 2–8 °C.

Skyddas mot fluorescerande ljus.

Se flaskans etikett för specifikt utgångsdatum. CHANG Medium D kan frysas ned igen högst 2 gånger och förvaras upptinat vid 2–8 °C i 14 dagar utan att dess funktion påverkas. Förvaring under längre tid än 14 dagar rekommenderas ej.

FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER OCH VARNINGAR

Denna produkt är avsedd att användas av personal med utbildning i procedurer som omfattar den icederade tillämpning för vilken produkten är avsedd.

Flaskor vars sterila förpackning inte är intakt får inte användas.

Använd inte CHANG Medium D efter det utgångsdatum som anges på etiketten.

EESTI KEEL

NÄIDUSTUS KASUTAMISEKS

Toodet CHANG Medium D gentamitsiiniiga võib kasutada järgmistel eesmärkidel:

- Lootevedeliku rakkude primaarne kultuurimine
- Tõstetud lootevedeliku rakkude kasvatamine
- Luuüdi rakkude kultuurimine
- Tahke lootekude koorioni hattude proovist

See sööde on mõeldud kasutamiseks CO₂ inkubaatorites (5–8% CO₂ keskkonnas tasakaalustatud kultuurid).

pH lõppnäit peab olema 6,8–7,2.

SEADME KIRJELDUS

CHANG Medium D töötati välja inimese lootevedeliku rakkude primaarseks kultuurimiseks karjootüüpimise ja muude sünnielsete geneetiliste testide tegemise eesmärgil. Koostis on optimeeritud nii rakukasvatuspudelites kui ka *in situ* metodoloogiateks. CHANG Medium D sisaldab antibiootikumi gentamitsiinsulfaat (50 µg/ml).

OSAD

<u>Aminohapped</u>	Testosteroon	<u>Vitamiinid ja mikroelemendid</u>
Alanin	Beta-östradiool	Askorbinhape
Argiin	Hüdrokortisoon	Foolhape
Asparagiin		Nikotiinamiid
Asparagiinhape	<u>Muu</u>	Riboflavin
Tsüsteiin	Biotiin	Tiamiin
Glutamiinhape	Etüülalkohol	Pantoteenhape
Glutamiin	Türoiniin	Kobalamiin
Glütisiin		Püridoksiin
Histiidiin	<u>Antioksidant</u>	
Isoleutsiin	Lipohape	<u>Soodlad ja ioonid</u>
Leutsiin		Naatriumkloriid
Lüsiin	<u>Nukleiinhapped</u>	Naatriumseleniit
Metioniin	Deoksüadenosiin	Kaltsiumkloriid
Fenüülalaniin	Deoksütüidiin	Koliinkloriid
Proliin	Deoksüguanosiin	Kaaliiumkloriid
Seriin	Adenosin	Magneesium-sulfaat
Treoniin	Tsütidin	Naatriumfosfaat
Trüptofaan	Guanosiin	
Türosiin	Tümidiin	<u>Puhver</u>
Valiin	Uridiin	Naatriumvesinik-karbonaat

<u>Valgud, hormoonid ja kasvfaktorid</u>	<u>Energia subst-raadid</u>	<u>Puhver</u>
Veiseloote päritolu seerum (FBS)	<u>Glukoos</u>	Naatriumvesinik-karbonaat
Vasika päritolu seerum	Püruvaat	<u>Antibiootikum</u>
Fibroplastide kasvufaktor (FGF)	Inositol	Gentamitsiin-sulfaat
Insuliin	<u>pH-indikaator</u>	<u>Vesi</u>
Progesteroon	Fenoolpunane	WFI kvaliteet

KVALITEIDI TAGAMINE

STERIILSUS

CHANG Medium D tootmisel kasutatav seerum on testitud viiraalse saaste suhtes CFR ptk 9 osa 113.53 järgi. Samuti on seda testitud mükoplasma suhtes. CHANG Medium D on steriliseeritud filtreerimise teel läbi 0,1 µ filtrii. Toote CHANG Medium D proove on võimaliku bakterioloogilise saaste suhtes testitud, järgides steriilsuse katseprotokoll, mida on kirjeldatud kehtivas USP steriilsustestis <71>.

ETTEVALMISTUSED KASUTAMISEKS

- Sulatage CHANG Medium D kiirelt, keerutades pudelit 37 °C veevannis.
- CHANG Medium D sisaldab antibiootikumi gentamitsiinsulfaat (50 µg/ml). Vajaduse korral võib lisada antibiootikume.

CHANG MEDIUM D ALIKVOOTIMINE

- Sulatage CHANG Medium D juhiste kohaselt.
- Jaotage aseptiliselt sobiva suurusega alikvootideks ja külmutage uuesti.
- Kui olete valmis kasutamiseks, sulatage alikvoodid 37 °C veevannis.

KASUTUSJUHEND

Toote CHANG Medium D kasutamine primaarkultuuride korral: *in situ* metodoloogiad

- Tsentrifugige lootevedelikku väiksel kiirusel, et rakke kontsentreerida.
- Resuspenderige rakupellet väheses patsiendi enda lootevees. Näiteks võite aspireerida 10 ml tsentrifuugitud lootevedeliku supernatanti 0,5 ml võrra rakupelleti kohale ja resuspenderida. Lisage kontsentreeritud rakususpensioonile piisavalt toodet

- CHANG Medium D, et igale slaidile oleks võimalik kanda 0,5 ml (kokku 4 slaidi), või 2 ml rakukasvatuspudeli kohta.
- Inkubeerige kulture segamatult temperatuuril 37 °C 5–8% CO₂ keskkonnas.
 2. päeval katke kultuurid üle 2 ml tootega CHANG Medium D.
 - 4–5 päeva järel tuleb kontrollida kultuuride kasvu. Kasvu tuvastamiseks tuleb kultuure toita. Toitke kultuure, eemaldades kogu kultuuri supernatandi ja asendades selle 2 ml värske CHANG Medium D-ga. Seejärel on soovitatav kultuure iga 2 päeva järel toita.
 - Kontrollige kultuuride kasvu 5. päeval või pärast seda ning koguge, kui tuvastate piisavad kolooniad.
 - Parimad tulemused saavutatakse kultuuride tootmisel tootega CHANG Medium D üks päev enne kogumist.

Toote CHANG Medium D kasutamine primaarkultuuride korral: Rakupudeli metodoloogiad

- Tsentrifugige lootevedelikku väiksel kiirusel, et rakke kontsentreerida.
- Resuspenderige rakupellet väheses patsiendi enda lootevees. Näiteks võite aspireerida 10 ml tsentrifuugitud lootevedeliku supernatanti 1 ml võrra rakupelleti kohale ja resuspenderida. Lisage 4 ml CHANG Medium D-d 5 ml pudeli kogumahu kohta.
- Inkubeerige kulture segamatult temperatuuril 37 °C 5–8% CO₂ keskkonnas.
5. päeval kontrollige kasvu. Vahetage sööde värske CHANG Medium D vastu ja koguge, kui tuvastate piisava rakukasvu.
- Kontrollige kultuure kasvu suhtes ja vahetage seejärel sööde iga päev täielikult välja, kuni tuvastate piisavad kolooniad, mis on kogumiseks valmis.
- Parimad tulemused saavutatakse kultuuride tootmisel tootega CHANG Medium D üks päev enne kogumist.

Toote CHANG Medium D kasutamine tõstetud lootevedeliku rakkude kasvatamiseks:

Rakkude tõstmiseks töödelge kultuure trüpsiiniga (või pronasaiga vms) nagu tavapärasel rakkude kasvatamisel tavalises söötmes. Proteaasiga töötlemist tuleb hoolikalt jälgida. CHANG Medium D-s töödelnud lootevedeliku rakud kipuvad olema proteaasitõuluse suhtes tundlikumad kui tavapärasel söötmes kasvatatud lootevedeliku rakud. Sellega arvestamiseks tuleb võib-olla muuta protokollii.

Kultuuride söötmiseks kasutatava söötme pH peab olema vahemikus 6,8–7,2 (st sööde peab olema kergelt kollakasoranž). pH-D on lihtne kohandada, asetades söötme umbes 30 minutiks kergelt lahti keeratud korgiga 5–8% CO₂ inkubaatorisse.

Märkus. Tootes CHANG Medium D tekib sageli kaltsiumoksaaladi kristalle. Nende kristallide esinemine ei ole põhjustanud kahjulikku toimet toote jõudlusele.

CHANG Medium D sisaldab antibiootikumi gentamitsiinsulfaat. Tuleb rakendada sobivaid ettevaatusabinõusid, et patsient ei oleks selle antibiootikumi suhtes ülitundlik.

SÄILITAMINE JA STABIILSUS

Säilitage toodet CHANG Medium D külmutatult temperatuuril –10 °C. Kasutamata CHANG Medium D võib uuesti külmutada või säilitada temperatuuril 2–8 °C.

Kaitske fluorestentsvalguse eest.

Aegumiskuupäeva vaadake pudeli etiketilt. Toodet CHANG Medium D võib uuesti külmutada kuni 2 korda ning seda võib sulatatult säilitada temperatuuril 2–8 °C 14 päeva, ilma et see mõjutaks toote funktsionaalsust. Toodet ei ole soovitatav säilitada üle 14 päeva.

ETTEVAATUSABINÕUD JA HOIATUSED

See seade on ette nähtud kasutamiseks tervishoiutöötajatele, kes on saanud koolituse selle seadme sihtstarbelse kasutamise alal.

Ärge kasutage ühtegi pudelit, mille steriilne pakend on kahjustunud.

Ärge kasutage toodet CHANG Medium D pärast toote etiketil näidatud aegumiskuupäeva.

MAGYAR

FELHASZNÁLÁSI JAVALLATOK

A gentamicinnel kiegészített CHANG Medium D a következőkre használható:

1. az amniotikus folyadék sejteinek elsődleges tenyésztése;
2. az amniotikus folyadék passzált sejteinek növesztése;
3. csontvelősejtek tenyésztése;
4. szilárd amnionszövet mintavételezése chorion-bolyhokból.

Ezt a médiumot CO₂-inkubátorokban (5–8%-os CO₂-atmoszférával ekvibráltny tenyészetek) történő használatra tervezték.

A végső pH-értéknek 6,8 és 7,2 között kell lennie.

TERMÉKISMERTETÉS

A CHANG Medium D a humán amniotikus folyadék sejteinek elsődleges tenyésztésére lett kifejlesztve, kariotípus meghatározásához és más antenatális genetikai vizsgálatokhoz. Az összetételét flaska és *in situ* módszerekhez is optimalizálták. A CHANG Medium D gentamicin-szulfát antibiotikumot (50 µg/ml) tartalmaz.

ÖSSZETEVŐK

<u>Aminosavak</u>	(fibroblast growth factor, FGF)	<u>Vitaminok és nyomelemek</u>
Alanin	Inzulin	Aszkorbinsav
Arginin	Progeszteron	Folsav
Aszparagin	Progeszteron	Nikotinamid
Aszparaginsav	Testoszteron	Riboflavin
Cisztein	Béta-ösztadiol	Tiamin
Glutaminsav	Hidrokortizon	Pantoténsav
Glutamin		Kobalamin
Glicin	<u>Egyéb</u>	Piridoxin
Hisztidin	Biotin	
Izoleucin	Etil-alkohol	
Leucin	Tironin	<u>Sók és ionok</u>
Lizin		Nátrium-klorid
Metionin	<u>Antioxidáns</u>	Nátrium-szelenit
Fenilalanin	Tioktánsav	Kalcium-klorid
Prolin		Kolin-klorid
Szerin	<u>Nukleinsavak</u>	Kálium-klorid
Treonin	Dezoxi-adenozin	Magnézium-szulfát
Triptofán	Dezoxi-citidin	Nátrium-foszfat
Tirozin	Dezoxi-guanozin	
Valin	Adenozin	<u>Puffer</u>
	Citidin	Nátrium-bikarbonát
<u>Fehérjék, hormonok és növekedési faktorok</u>	Guanozin	<u>Antibiotikum</u>
Magzati szarvasmarha szérum (fetal bovine serum, FBS)	Timidin	Gentamicin-szulfát
Szarvasmarha borjú szérum	Uridin	
Fibroblaszt növekedési faktor	<u>Energia-szubsztrátok</u>	<u>Víz</u>
	<u>Glükóz</u>	Injekcióhoz való minőségű víz
	Piruvát	
	Inozitol	
	<u>pH-indikátor</u>	
	Fenolvörös	

MINŐSÉGBIZTOSÍTÁS

STERILITÁS

A CHANG Medium D előállításához használt szérum víruszennyeződését a CFR 9. címének 113.53 része szerint vizsgálták. A médium mikoplazma-tartalmát is megvizsgálták. A CHANG Medium D sterilizálása 0,1 mikronos szűrőn át történő szűréssel történt. A CHANG Medium D mintáit a jelenlegi Amerikai Gyógyszerkönyv sterilizációs vizsgálatában <71> leírt sterilizációs vizsgálati protokollt követve tesztelik a lehetséges bakteriológiai szennyeződésre.

ELŐKÉSZÍTÉS A FELHASZNÁLÁSRA

1. Olvassa fel gyorsan a CHANG Medium D médiumot az üveg 37 °C-os vízfürdőben történő forgatásával.
2. A CHANG Medium D gentamicin-szulfát antibiotikumot (50 µg/ml) tartalmaz. Szükség esetén további antibiotikumokat is hozzáadhat.

A CHANG MEDIUM D SZÉTOSZTÁSA

1. Olvassa fel a CHANG Medium D médiumot az utasítások szerint.
2. Aszeptikusan ossza a kívánt méretű alikvotokra, és fagyassza le újra.
3. Olvassa fel az alikvotokat 37 °C-os vízfürdőben, amikor a felhasználásukra készen áll.

HASZNÁLATI UTASÍTÁS

A CHANG Medium D felhasználása elsődleges tenyésztéshez: *In situ* módszerek

1. Centrifugálja az amniotikus folyadékot alacsony sebességgel a sejtek koncentrálásához.
2. Szuszpendálja fel újra a sejt pelletet a beteg saját amniotikus folyadékának kis mennyiségében. Például szívja fel 10 ml centrifugált amniotikus folyadék felülúszóját 0,5 ml-re a sejt pellet fölé, és szuszpendálja fel újra. Adjon elegendő CHANG Medium D médiumot a koncentrált sejtuszpenzióhoz úgy, hogy a végső szélesítési térfogat fedőlemezenként 0,5 ml (összesen 4 fedőlemez) vagy flaskánként 2 ml legyen.
3. Inkubálja a tenyészeteket zavartalanul 37 °C-on, 5–8%-os CO₂-atmoszférában.
4. Árassa el a tenyészeteket a 2. napon 2 ml CHANG Medium D hozzáadásával.
5. 4–5 nap elteltével ellenőrizni kell a tenyészetek növekedését. A tenyészeteket a növekedés megállapítása után táplálni kell. A tenyészetek táplálásához távolítsa el a tenyészet összes felülúszóját, és helyettesítse 2 ml friss CHANG Medium D médiummal. Javasoljuk, hogy a tenyészeteket ezután 2 naponta táplálja.
6. Ellenőrizze a tenyészetek növekedését az 5. napon vagy azt követően, és amikor elegendő kolónia figyelhető meg, végezze el az összegyűjtést.
7. A legjobb eredmények úgy érhetőek el, ha a tenyészeteket az összegyűjtés előtti napon CHANG Medium D médiummal táplálják.

A CHANG Medium D felhasználása elsődleges tenyésztéshez: Flaska módszerek

1. Centrifugálja az amniotikus folyadékot alacsony sebességgel a sejtek koncentrálásához.
2. Szuszpendálja fel újra a sejt pelletet a beteg saját amniotikus folyadékának kis mennyiségében. Például szívja fel 10 ml centrifugált amniotikus folyadék felülúszóját 1 ml-re a sejt pellet fölé, és szuszpendálja fel újra. Adjon 4 ml CHANG Medium D médiumot a flaskánként 5 ml-es teljes térfogathoz.
3. Inkubálja a tenyészeteket zavartalanul 37 °C-on, 5–8%-os CO₂-atmoszférában.
4. Ellenőrizze a növekedést az 5. napon. Cserélje ki a médiumot friss CHANG Medium D médiumra, és ha elegendő sejt növekedés figyelhető meg, végezze el az összegyűjtést.
5. Ellenőrizze a tenyészetek növekedését, és ezt követően cserélje ki teljesen a médiumot minden nap addig, amíg elegendő kolónia nem figyelhető meg és a kolóniák készen nem állnak az összegyűjtésre.
6. A legjobb eredmények úgy érhetőek el, ha a tenyészeteket az összegyűjtés előtti napon CHANG Medium D médiummal táplálják.

A CHANG Medium D felhasználása az amniotikus folyadék passzált sejteinek növesztéséhez:

A sejtek passzálásához kezelje a tenyészeteket tripsinnel (vagy pronázzal stb.), ahogyan tenné abban az esetben, ha a sejtek hagyományos médiumban növekednének. A proteázkezelést azonban gondosan ellenőrizni kell. Az amniotikus folyadék CHANG Medium D médiumban növekvő sejtei általában érzékenyebbek a proteázkezelésre, mint a hagyományos médiumban növekvő sejtek. Ennek figyelembevételéhez szükséges lehet a protokoll módosítása.

A tenyészetek táplálására szolgáló médium pH-értékének 6,8 és 7,2 között kell lennie (azaz a médiumnak enyhén sárgás-lazacszínűnek kell lennie). A pH könnyen beállítható úgy, hogy a médiumot 5–8%-os CO₂-inkubátorba teszi körülbelül 30 percre, enyhén meglazított kupakkal.

Megjegyzés: A CHANG Medium D médiumban gyakran képződnek kalcium-oxalát kristályok. A kristályok jelenlétéről nem mutatták ki, hogy bármilyen káros hatással lenne a termék teljesítményére.

A CHANG Medium D gentamicin-szulfát antibiotikumot tartalmaz. Megfelelő elővigyázatossági intézkedéseket kell tenni, hogy megbizonyosodjon, a beteg nem szenzitizált erre az antibiotikumra.

TÁROLÁS ÉS STABILITÁS

A CHANG Medium D médiumot tárolja fagyaszta, –10 °C-on. A fel nem használt CHANG Medium D újra lefagyasztható, vagy 2 és 8 °C közötti hőmérsékleten tárolható.

Védje a fluoreszcens fénytől.

Az adott lejárati dátumra vonatkozóan lásd az üvegen található címkét. A CHANG Medium D legfeljebb kétszer fagyasztható le újra, felolvasztva pedig 2 és 8 °C közötti hőmérsékleten 14 napig tárolható anélkül, hogy ez befolyásolná a funkcióját. 14 napnál hosszabb ideig tartó tárolás nem ajánlott.

ÖVINTÉZKEDÉSEK ÉS FIGYELMEZTETÉSEK

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

Ne használjon olyan üveget, amelynek a steril csomagolása megsérült.

Ne használja a CHANG Medium D médiumot a címkén feltüntetett lejárati időn túl.

NAUDOJIMO INDIKACIJA

Gentamicinu papildyta „CHANG Medium D“ terpė gali būti naudojama pagal tokią paskirtį:

1. amniono skysčio lašelių pirminei kultūrai;
2. auginant perkeltas amniono skysčio lašteles;
3. kaulų čiulpu lašelių kultūrai;
4. tvirtu amniono audiniui, gautam paėmus chorioninių išaugų (gaurelių) mėginius.

Ši terpė buvo sukurta naudoti CO₂ inkubatoriuose (lašelių kultūros pusiausvyros būsena pasiekta naudojant 5–8 % CO₂ atmosferą).

Galutinis pH turi būti 6,8–7,2.

ĮTAISO APRAŠYMAS

„CHANG Medium D“ terpė buvo sukurta žmogaus amniono skysčio lašelių pirminei kultūrai ir yra skirta naudoti atliekant kariotipavimą ir kitą prenatalinį genetinį tyrimą. Ši formulė buvo optimizuota kolbos ir *in situ* metodologijoms. „CHANG Medium D“ terpės sudėtyje yra antibiotiko gentamicino sulfato (50 µg/ml)

SUDEDAMOSIOS DALYS

<u>Aminorūgštys</u>	Progesteronas	<u>Vitaminai ir mikroelementai</u>
Alaninas	Testosteronas	Askorbo rūgštis
Argininas	Beta estradiolis	Folio rūgštis
Asparaginas	Hidrokortizonas	Nikotinamidas
Asparto rūgštis		Riboflavinai
Cisteinas	<u>Kita</u>	Tiaminas
Glutamo rūgštis	Biotinas	Pantotėninė rūgštis
Glutaminas	Etilo alkoholis	Kobalaminas
Glicinas	Tironinas	Piridoksinas
Histidinas		
Izoleucinas	<u>Antioksidantas</u>	
Leucinas	Lipo rūgštis	
Lizinas		<u>Druskos ir jonai</u>
Metioninas	<u>Nukleino rūgštys</u>	Natrio chloridas
Fenilalaninas	Deoksiadenozinas	Natrio selenitas
Prolinas	Deoksitidinas	Kalcio chloridas
Serinas	Dezoksiguanozinas	Cholino chloridas
Treoninas	Adenozinas	Kalio chloridas
Triptofanas	Citidinas	Magnio sulfatas
Tirozinas	Guanozinas	Natrio fosfatas
Valinas	Timidinas	
	Uridinas	<u>Buferinis tirpalas</u>
<u>Baltymai, hormonai ir augimo faktoriai</u>	<u>Energetiniai substratai</u>	Natrio bikarbonatas
Jaučio embriono kraujo serumas (FBS)	<u>Gliukozė</u>	<u>Antibiotikas</u>
Veršelio kraujo serumas	Piruvatas	Gentamicino sulfatas
Fibroblasto augimo faktorius (FGF)	Inozitolis	
Insulinas	<u>pH indikatorius</u>	<u>Vanduo</u>
	Fenolio raudonas	Injekcinio vandens kokybė

KOKYBĖS UŽTIKRINIMAS**STERILUMAS**

„CHANG Medium D“ terpės gamyboje naudotas serumas buvo patikrintas dėl užteršimo virusais pagal CFR 9 antraštinę dalį, 113.53 dalį. Taip pat patikrinta, ar jis neužkrėstas mikoplazmomis. „CHANG Medium D“ terpė yra sterilizuota filtruojant per 0,1 mikrono filtrus. „CHANG Medium D“ terpės mėginiai yra išbandyti bakteriologinio užkrėtimo rizikai nustatyti pagal šiuo metu patvirtintą Jungtinių Valstijų farmakopėjos (USP) sterilumo bandymų protokolą <71>.

PARUOŠIMAS NAUDOTI

1. Atšildykite „CHANG Medium D“ terpę, greitai sukdami buteliuką 37 °C temperatūros vandens vonelėje.
2. „CHANG Medium D“ terpės sudėtyje yra antibiotiko gentamicino sulfato (50 µg/ml). Prireikus galima pridėti papildomų antibiotikų.

„CHANG MEDIUM D“ TERPĖS LAŠINIMAS

1. Atšildykite „CHANG Medium D“ terpę pagal nurodymus.
2. Aseptiškai paskirstykite į patogaus naudoti dydžio alikvotines dalis ir pakartotinai užšaldykite.
3. Kai būsite pasirengę naudoti, atšildykite alikvotines dalis 37 °C temperatūros vandens vonelėje.

NAUDOJIMO NURODYMAI

„CHANG Medium D“ terpės naudojimas pirminėms kultūroms: *in situ* metodai

1. Centrifuguokite amniono skystį nedideliu greičiu, kad koncentruotumėte lašteles.

2. Resuspenduokite lašteles granulę nedideliame kiekyje pacientės amniono skysčio. Pavyzdžiui, siurbkite 10 ml supernatanto iš centrifuguoto amniono skysčio, palikdami 0,5 ml virš laštelės granulės, ir resuspenduokite. Į koncentruotą lašelių suspensiją pridėkite pakankamai „CHANG Medium D“ terpės, kad galutinis po kiekvienos plokštelės dengiamuoju stikleliu tenkantis tūris būtų 0,5 ml (iš viso 4 dengiamieji stikleliai), arba po 2 ml vienam flakonėliui.
3. Kultūras netrukdomai inkubuokite 37 °C temperatūroje 5 %–8 % CO₂ atmosferoje.
4. 2-ąją dieną apsemkite kultūras, pridėdami 2 ml „CHANG Medium D“ terpės.
5. Po 4–5 dienų kultūras reikia patikrinti, ar auga. Pastebėjus, kad kultūros auga, jas reikia maitinti. Maitinkite kultūras pašalindami visą kultūros paviršinį sluoksnį ir pakeisdami terpę į 2 ml šviežios „CHANG Medium D“ terpės. Vėliau rekomenduojama kultūras maitinti kas 2 dienas.
6. 5-ąją dieną arba po 5 dienų patikrinkite kultūrų augimą ir aptikę pakankamai kolonijų lašteles surinkite.
7. Geriausių rezultatų pasiekama kultūras maitinant „CHANG Medium D“ terpėje, likus dienai iki kultūrų ėmimo.

„CHANG Medium D“ terpės naudojimas pirminėms kultūroms: Kolbos metodologijos

1. Centrifuguokite amniono skystį nedideliu greičiu, kad koncentruotumėte lašteles.
2. Resuspenduokite laštelės granulę nedideliame kiekyje pacientės amniono skysčio. Pavyzdžiui, siurbkite 10 ml supernatanto iš centrifuguoto amniono skysčio, palikdami 1 ml virš laštelės granulės, ir resuspenduokite. Įpilkite 4 ml „CHANG Medium D“ terpės, kad kiekvienoje kolboje būtų po 5 ml.
3. Kultūras netrukdomai inkubuokite 37 °C temperatūroje 5 %–8 % CO₂ atmosferoje.
4. 5-ąją dieną patikrinkite augimą. Pakeiskite terpę šviežia „CHANG Medium D“ terpe ir imkite kultūras, jei pastebėjote, kad užaugo pakankamai lašelių.
5. Tikrinkite kultūrų augimą ir kasdien visiškai keiskite terpę, kol pastebėsite, kad užaugo pakankamai kolonijų ir jas galima imti.
6. Geriausių rezultatų pasiekama kultūras maitinant „CHANG Medium D“ terpėje, likus dienai iki kultūrų ėmimo.

„CHANG Medium D“ terpės naudojimas auginant perkeltas amniono skysčio lašteles:

Norėdami perkelti lašteles, apdorokite kultūras tripsinu (arba pronasu ir pan.), kaip įprasta auginant lašteles įprastinėje terpėje. Tačiau proteazės procedūrą reikia atidžiai stebėti. „CHANG Medium D“ terpėje užaugintos amniono skysčio laštelės yra jautresnės proteazės procedūrai nei amniono skysčio laštelės, užaugintos įprastinėje terpėje. Gali pririekti pakeisti protokolą, kad galėtumėte atsižvelgti į šį faktą.

Kultūroms maitinti naudojamos terpės rūgštingumas turi būti pH 6,8–7,2 (t. y. terpė turi būti šiek tiek gelsvai lašišinės spalvos). pH galima lengvai pakoreguoti terpę apie 30 minučių palaikant 5 %–8 % CO₂ inkubatoriuje su šiek tiek prasaktu dangteliu.

Pastaba. Dažnai „CHANG Medium D“ terpėje susidaro kalcio oksalato kristalai. Nėra nustatyta, kad tie kristalai kaip nors kenkia produkto savybėms.

„CHANG Medium D“ terpės sudėtyje yra antibiotiko gentamicino sulfato. Būtina imtis tinkamų atsargumo priemonių užtikrinant, kad pacientė nėra alergiška šiam antibiotikui.

LAIKYMAS IR STABILUMAS

Laikykite „CHANG Medium D“ terpę užšaldytą –10 °C temperatūroje. Nenaudotą „CHANG Medium D“ galima pakartotinai užšaldyti arba laikyti 2–8 °C temperatūroje.

Saugoti nuo fluorescencinių spindulių.

Konkrečios galiojimo pabaigos datos ieškokite buteliuko etiketėje. „CHANG Medium D“ terpę galima pakartotinai užšaldyti daugiausiai 2 kartus ir laikyti atšildytą 2–8 °C temperatūroje 14 dienų (jos savybės lieka nepakitusias). Nerekomenduojama laikyti ilgiau kaip 14 dienų.

ATSARGUMO PRIEMONĖS IR ĮSPĖJIMAI

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

Nenaudokite produkto, jei pažeista sterili buteliuko pakuotė.

Nenaudokite „CHANG Medium D“ terpės pasibaigus etiketėje nurodytai galiojimo pabaigos datai.

TÜRKÇE

KULLANIM ENDİKASYONU

Gentamisinli CHANG Medium D şu uygulamalar için kullanılabilir:

- amniyotik sıvı hücrelerinin primer kültürü
- pasaj yapılmış amniyotik sıvı hücrelerini üretme
- kemik iliği hücrelerinin kültürü
- koryonik villus örneklemesinden solid amniyotik doku.

Bu vasat CO₂ inkübatörlerinde (%5 - %8 CO₂ atmosferinde dengelenmiş kültürler) kullanılmak üzere tasarlanmıştır.

Son pH 6,8 - 7,2 olmalıdır.

CİHAZ TANIMI

CHANG Medium D, karyotipleme ve diğer antenatal genetik testlerde kullanıma yönelik olarak insan amniyotik sıvı hücrelerinin primer kültürü için geliştirilmiştir. Bu formül hem flask hem in situ metodolojileri için optimize edilmiştir. CHANG Medium D Gentamisin Sülfat antibiyotigini (50 µg/mL) içerir

BİLEŞENLER

Amino Asitler	Progesteron	Vitaminler ve eser
Alanin	Testosteron	elemanlar
Arjinin	Beta estradiol	Askorbik asit
Asparajin	Hidrokortizon	Folik asit
Aspartik Asit		Nikotinamid
Sistein	Diğer	Riboflavin
Glutamik Asit	Biyotin	Tiyamin
Glutamin	Etil alkol	Pantotenik asit
Glisin	Tironin	Kobalamin
Histidin		Piridoksin
İzöloşin	Antioksidan	
Lösin	Tiyotik asit	Tuzlar ve iyonlar
Lizin		Sodyum klorür

Metiyonin	Nükleik asitler	Sodyum selenit
Fenilalanin	Deoksadenozin	Kalsiyum klorür
Prolin	Deoksitidin	Kolin klorür
Serin	Deoksiguanozin	Potasyum klorür
Treonin	Adenozin	Magnezyum sülfat
Triptofan	Sitidin	Sodyum fosfat
Tirozin	Guanozin	
Valin	Timidin	Tampon
	Üridin	Sodyum bikarbonat

Proteinler, Hormonlar ve Bütüme Faktörleri	Enerji Substratları	Antibiyotik
Fetal siğir serumu (FSS)	Glukoz	Gentamisin Sülfat
Siğir dana serumu	Piruvat	
Fibroblast büyüme faktörü (FGF)	İnositol	Su
İnsülin	pH Göstergesi	Enjeksiyonluk Su Kalitesi
	Fenol kırmızısı	

KALİTE GÜVENCE

STERİLİTE

CHANG Medium D üretiminde kullanılan serum, CFR Başlık 9 Kısım 113.53 uyarınca viral kontaminasyon için test edilmiştir. Ayrıca mikoplazma için taramıştır. CHANG Medium D 0,1 mikron bir filtreden filtrasyon yoluyla sterilize edilmiştir. CHANG Medium D örnekleri mevcut USP Sterilite testi <71> içinde tanımlanan sterilite testi protokolü izlenerek olası bakteriyolojik kontaminasyon açısından test edilir.

KULLANIM HAZIRLIĞI

- CHANG Medium D ürününü bir 37°C su banyosunda şişeyi çevirerek hızla çözün.
- CHANG Medium D Gentamisin Sülfat antibiyotigini (50 µg/mL) içerir. İstenirse ek antibiyotikler eklenebilir.

CHANG MEDIUM D ALİKOTLAMA

- CHANG Medium D ürününü talimata göre çözün.
- Uygun büyüklükte alikotlara aseptik olarak dağıtın ve tekrar dondurun.
- Alikotları kullanmaya hazır olduğunuzda 37°C su banyosunda çözün.

KULLANMA TALİMATI

Primer Kültürler için CHANG Medium D Kullanımı: *in Situ* Metodolojiler

- Hücreleri konsantrre etmek için amniyotik sıvıyı düşük hızda santrifüleyin.
- Hücre pelletini hastanın kendi amniyotik sıvısının küçük bir miktarında tekrar süspansiyon haline getirin. Örneğin santrifüjenmiş 10 mL amniyotik sıvının süpernatanını hücre pelletinin 0,5 mL üzerine kadar aspire edin ve tekrar süspansiyon haline

getirin. Konsantrre hücre süspansiyonuna lamel başına 0,5 mL (toplam 4 lamel) veya flasket başına 2 mL olacak şekilde son plakalama hacmini mümkün kılmak üzere yeterli CHANG Medium D ekleyin.

- Kültürleri elmeden 37°C %5 - %8 CO₂ atmosferi altında inkübe edin.
- Kültürleri gün 2'de 2 mL CHANG Medium D ekleyerek tamamen sıvıyla örtün.
- Kültürlerin 4 - 5 günden sonra üreme açısından kontrol edilmesi gerekir. Kültürler üreme gözlendikten sonra beslenmelidir. Kültürleri tüm kültür süpernatanını alıp yerine 2 mL yeni CHANG Medium D koyarak besleyin. Bundan sonra kültürlerin 2 günde bir beslenmesi önerilir.
- Kültürleri 5. günde veya sonrasında üreme için kontrol edin ve yeterli koloni gözlenince toplayın.
- En iyi sonuçlar kültürlerin toplama öncesi günde CHANG Medium D ile beslenmesiyle alınır.

Primer Kültürler için CHANG Medium D Kullanımı: *Flask Metodolojileri*

- Hücreleri konsantrre etmek için amniyotik sıvıyı düşük hızda santrifüleyin.
- Hücre pelletini hastanın kendi amniyotik sıvısının küçük bir miktarında tekrar süspansiyon haline getirin. Örneğin santrifüjenmiş 10 mL amniyotik sıvının süpernatanını hücre pelletinin 1 mL üzerine kadar aspire edin ve tekrar süspansiyon haline getirin. Flask başına toplam 5 mL hacim için 4 mL CHANG Medium D ekleyin.
- Kültürleri elmeden 37°C %5 - %8 CO₂ atmosferi altında inkübe edin.
- Gün 5'te üreme için kontrol edin. Vasati yeni CHANG Medium D ile değiştirin ve yeterli hücre gelişimi gözlenirse toplayın.
- Kültürlerin üreme durumunu kontrol edin ve bundan sonra yeterli koloni gözlenene ve toplamaya hazır olana kadar her gün vasati tamamen değiştirin.
- En iyi sonuçlar kültürlerin toplama öncesi günde CHANG Medium D ile beslenmesiyle alınır.

Pasaj Yapılmış Amniyotik Sıvı Hücrelerini Üretmek için CHANG Medium D kullanımı:

Hücre pasajı yapmak için kültürlere, hücreler genelleksel vasatta üretildiğinde normalde yapacağınız gibi tripsin (veya Pronase vs.) muamelesi yapın. Ancak proteaz tedavisi dikkatle izlenmelidir. Amniyotik sıvı hücreleri CHANG Medium D içinde büyütüldüğünde genelleksel vasatta büyütülenlere göre proteaz tedavisine daha duyarlı olma eğilimindedir. Protokolünüzü bunu hesaba alacak şekilde değiştirerek gullekebilir.

Kültürleri beslemek için kullanılan vasatın pH değeri 6,8 -7,2 olmalıdır (yani vasat hafif sarımsı pembe olmalıdır), pH değeri vasatı kapağı hafifçe gevşetilmiş olarak yaklaşık 30 dakika boyunca bir %5 - %8 CO₂ inkübatörüne yerleştirerek kolayca ayarlanabilir.

Not: CHANG Medium D içinde sıklıkla Kalsiyum Oksalat kristalleri oluşur. Bu kristallerin varlığının ürün performansı üzerinde herhangi bir olumsuz etkisi olduğu gösterilmemiştir.

CHANG Medium D Gentamisin Sülfat antibiyotigini içerir. Hastanın bu antibiyotiğe karşı hassas olmadığından emin olmak için gerekli önlemler alınmalıdır.

SAKLAMA VE STABİLİTE

CHANG Medium D ürününü -10°C'de dondurulmuş olarak saklayın. Kullanılmamış CHANG Medium D ürünü tekrar dondurulabilir veya 2°C ile 8°C arasında saklanabilir.

Floresan ışıkdan koruyun.

Spesifik son kullanma tarihi için şişe etiketine bakınız. Chang Medium D, kullanımı öncesinde işlevi bozulmaksızın en fazla 2 kez yeniden dondurulabilir ve çözülmuş olarak 2°C ile 8°C arasında 14 gün boyunca saklanabilir. 14 günden fazla saklama önerilmez.

ÖNLEMLER VE UYARILAR

Bu cihazın, cihaz kullanıcısının amaçlanmış olduğu belirtilen uygulamanın dahil olduğu işlemler konusunda eğitilmiş personelce kullanılmasına amaçlanmıştır.

Steril ambalajın olumsuz etkiendiği herhangi bir şişeyi kullanmayın.

CHANG Medium D ürününü etikette belirtilen son kullanma tarihinden sonra kullanmayın.

SLOVENČINA

INDİKÁCIA NA POUŽITIE

CHANG Medium D s gentamicinom možno použít na nasledujúce aplikácie:

- primárnu kultiváciu buniek plodovej vody
- rast pasážovaných buniek plodovej vody
- kultiváciu buniek kostnej drene
- vzorkovanie pevného zárodočného tkaniva z choriových klkov.

Toto médium bolo navrhnuté na použitie v inkubátoroch CO₂ (kultúrach ustálených s atmosférou 5 % – 8 % CO₂).

Výsledné pH musí byť 6,8 – 7,2.

POPIS ZARIADENIA

CHANG Medium D bolo vyvinuté na primárnu kultiváciu buniek plodovej vody na použitie pri karyotypovaní a iných prenatalných genetických testoch. Táto receptúra bola optimalizovaná pre metódy fliašiek aj in situ. CHANG Medium D obsahuje antibiotikum gentamicínsulfát (50 µg/ml).

ZLOŽKY

Aminokyseliny	Insulín	Vitamíny
alanín	progesterón	a stopové prvky
arginín	testosterón	kyselina
asparagín	beta estradiol	askorbová
kyselina	hydrokortizón	kyselina listová
asparagová		nikotinamid
cysteín		riboflavín

tyramín	Iné	tiámín
glutamová	biotín	etylalkohol
glutamin	tyronín	
glycín	Antioxídant	kyselina listová
histidín	izoleucín	
izoleucín	leucín	

lyzín	Nukleové kyseliny	deoxyadenozín
metionín	deoxycytidín	deoxyguanozín
fenylalanín	adenozín	cytidín
prolín	tyrozín	guanozín
treonín	tryptofán	tymidín
tryptofán	tyrozín	uridín
valín		

Bielkoviny, hormóny a rastové faktory	Energetické substráty	Antibiotikum
pyruvát	glukóza	gentamicínsulfát
inositol	inositol	

Indikátor pH	Voda	
fenolová červka	kvalita vody na injekciu	

KONTROLA KVALITY

STERILITA

Sérum použité pri výrobe CHANG Medium D bolo testované na vírusovú kontamináciu podľa CFR, kapitoly 9, časti 113.53. Podstúpilo tiež skríning na mykoplazmu. CHANG Medium D je sterilizované filtráciou cez 0,1-mikrónový filter. Vzorky CHANG Medium D sú testované na možnú bakteriologickú kontamináciu podľa protokolu na testovanie sterility popísaného v aktuálnom teste sterility USP<71>.

PRÍPRAVA NA POUŽITIE

- CHANG Medium D rýchlo rozmrazte vŕírením fľaše vo vodnom kúpeľi pri teplote 37 °C.
- CHANG Medium D obsahuje antibiotikum gentamicínsulfát (50 µg/ml). Ak chcete, možno pridať ďalšie antibiotiká.

ALIKVOTOVANIE CHANG MEDIUM D

- CHANG Medium D rozmrazte podľa pokynov.
- Asepticky ho distribuujte do alikvôt vhodnej veľkosti a znovu zmrazte.
- Alikvóty rozmrazte vo vodnom kúpeľi pri teplote 37 °C, keď sú pripravené na použitie.

NÁVOD NA POUŽITIE

Použitie CHANG Medium D na primárne kultúry: *Metodiky in situ*

- Plodovú vodu odstreďte pri nízkej rýchlosti, aby sa koncentrovali bunky.
- Bunkovú peletu resuspendujte v malom objeme plodovej vody pacientky. Napríklad aspirujte supernátant 10 ml odstredenej plodovej vody na 0,5 ml nad bunkovú peletu a resuspendujte.

Pridajte dostatočné množstvo CHANG Medium D do koncentrovanej bunkovej suspenzie, aby sa vytvoril konečný plátovací objem 0,5 ml na každé krycie sklíčko (celkom 4 krycie sklíčka) alebo 2 ml na každú fľaštičku.

- Nerušené kultúry inkubujte pri teplote 37 °C v atmosfére 5 % – 8 % CO₂.
- Druhý deň zalejte kultúry prídáním 2 ml CHANG Medium D.
- Po 4 až 5 dňoch skontrolujte rast na kultúrach. Kultúry treba príziviť, keď sa spozoruje rast. Kultúry prízivte odstránením všetkého supernatantu kultúry a prídáním 2 ml čerstvého CHANG Medium D. Potom sa odporúča kultúry príziviť každé 2 dni.
- Rast na kultúrach skontrolujte okolo 5. dňa a vykonajte zber, keď spozorujete dostatočné kolónie.
- Najlepšie výsledky sa dosiahnu, keď sú kultúry prízivené CHANG Medium D deň pred zberom.

Použitie CHANG Medium D na primárne kultúry: *Metodiky fľaštičiek*

- Plodovú vodu odstreďte pri nízkej rýchlosti, aby sa koncentrovali bunky.
- Bunkovú peletu resuspendujte v malom objeme plodovej vody pacientky. Napríklad aspirujte supernátant 10 ml odstredenej plodovej vody na 1 ml nad bunkovú peletu a resuspendujte. Pridajte 4 ml CHANG Medium D na konečný objem 5 ml na fľaštičku.
- Nerušené kultúry inkubujte pri teplote 37 °C v atmosfére 5 % – 8 % CO₂.
- Skontrolujte rast na 5. deň. Ak pozorujete dostatočný rast buniek, vymeňte médium za čerstvé CHANG Medium D a vykonajte zber.
- Skontrolujte rast na kultúrach a potom kompletne vymieňajte médium každý deň dovtedy, kým nepozorujete dostatočné kolónie a nie sú pripravené na zber.
- Najlepšie výsledky sa dosiahnu, keď sú kultúry prízivené CHANG Medium D deň pred zberom.

Použitie CHANG Medium D na rast pasážovaných buniek plodovej vody:

Na pasážovanie buniek ošetríte kultúry tripsinom (alebo pronázou atď.) ako obvykle, keď sa bunky pestujú v konvenčnom médiu. Ošetrovanie pronázou však treba pozorne sledovať. Bunky plodovej vody vypestované v CHANG Medium D sú zvyčajne citlivejšie na ošetrovanie pronázou, než bunky plodovej vody vypestované v konvenčnom médiu. Preto môže byť potrebné upraviť váš protokol a vziať to do úvahy.

pH média použitého na živenie kultúr musí byť medzi 6,8 – 7,2 (t. j. médium musí mať mierne žltlo-lososovú farbu). pH možno jednoducho upraviť vložením média do inkubátora s 5 % – 8 % CO₂ s mierne uvoľneným vrchnákom na asi 30 minút.

Poznámka: V CHANG Medium D sa bežne tvoria kryštály oxalátu vápenatého. Nepreukázalo sa, že by prítomnosť týchto kryštálov mala dopad na výkon tohto produktu.

CHANG Medium D obsahuje antibiotikum gentamicínsulfát. Musia sa vykonať primerané bezpečnostné opatrenia aby sa zaistilo, že pacient nie je senzibilizovaný na toto antibiotikum.

UCHOVÁVANIE A STABILITA

CHANG Medium D uchovávajúte zmrazené pri teplote -10 °C. Nepoužité CHANG Medium D možno znovu zmraziť a uchovávať pri teplote 2 °C až 8 °C.

Chráňte pred fluorescenčným svetlom.

Špecifický dátum expirácie nájdete na označení fľaše. CHANG Medium D možno opakovane zmraziť maximálne 2-krát a uchovávať rozmrazené pri teplote 2 °C až 8 °C 14 dní bez ovplyvnenia jeho funkcie. Uchovávanie dlhšie než 14 dní sa neodporúča.

BEZPEČNOSTNÉ OPATRENIA A VAROVANIA

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

Nepoužívajte žiadnu fľašu, ktorej sterilný obal bol narušený.

CHANG Medium D nepoužívajte po dátume expirácie uvedenom na označení.

БЪЛГАРСКИ

ПОКАЗАНИЯ ЗА УПОТРЕБА

CHANG Medium D с гентамицин може да се използва за следните приложения:

1. първична култура на клетки от амниотична течност,
2. растящи пасажни клетки от амниотична течност,
3. култура от клетки на костен мозък,
4. твърда амнионна тъкан от проба на хорионни вџси.

Тази среда е предназначена за използване в CO₂ инкубатори (култури, еквилибрирани с 5% – 8% CO₂ атмосфера).

Окончателното pH ниво трябва да е 6,8 – 7,2.

ОПИСАНИЕ НА ИЗДЕЛИЕТО

CHANG Medium D е разработена за първично култивиране на клетки от човешка амниотична течност за използване при кариотипизиране и други пренатални генетични тестове. Тази формула е оптимизирана за методология със слайд-флакон и методология *in situ*. CHANG Medium D съдържа антибиотик гентамицин сулфат (50 µg/ml)

КОМПОНЕНТИ

<u>Аминокиселини</u>	Прогестерон	<u>Витамини</u>
Аланин	Тестостерон	<u>и микроелементи</u>
Аргинин	Бета естрадиол	Аскорбинова
Аспарагин	Хидрокортизон	киселина
Аспарагинова		Фолиева
киселина	<u>Други</u>	киселина
Цистеин	Биотин	Никотинамид
Глутаминова	Етилов алкохол	Рибофлавин
киселина	Тиронин	Тиамин
Глутамин		Пантотенова
Глицин	<u>Антиоксидант</u>	киселина
Хистидин	Тиоктова	Кобаламин
Изолевцин	киселина	Пиридоксин
Левцин		
Лизин	<u>Нуклеинови</u>	<u>Соли и йони</u>
Метионин	<u>киселини</u>	Натриев хлорид
Фенилаланин	Дезоксиадеозин	Натриев селенит
Пролин	Дезоксицитидин	Калциев хлорид
Серин	Дезоксигуанозин	Холин хлорид
Треонин	Аденозин	Калиев хлорид
Триптофан	Цитидин	Магнезиев
Тирозин	Гуанозин	сулфат
Валин	Тимидин	Натриев фосфат
	Уридин	
<u>Протеини,</u>		<u>Буфер</u>
<u>хормони</u>	<u>Енергийни</u>	Натриев
<u>и растежни</u>	<u>субстрати</u>	бикарбонат
<u>фактори</u>	<u>Глюкоза</u>	
Фетален говежди	Пируват	<u>Антибиотик</u>
серум (FBS)	Инозитол	Гентамицин
Говежди серум		сулфат
от теле	<u>pH индикатор</u>	
Фибробластен	Фенол, червен	<u>Вода</u>
растежен фактор		Качество – вода
(FGF)		за инжектиране
Инсулин		

КОНТРОЛ НА КАЧЕСТВОТО

СТЕРИЛНОСТ

Серумът, използван в производството на CHANG Medium D, е тестван за вирусна контаминация съгласно CFR Раздел 9 Част 113.53. Той също така е подложен на скрининг за микоплазма. CHANG Medium D е стерилизирана чрез филтрация през филтър от 0,1 микрона. Проби от CHANG Medium D са тествани за възможна бактериологична контаминация съгласно протокола за тестване за стерилност, описан в актуалния тест за стерилност по USP <71>.

ПОДГОТОВКА ЗА УПОТРЕБА

1. Размразете CHANG Medium D бързо, като разклащате с кръгови движения бутилката във водна баня с температура 37° C.
2. CHANG Medium D съдържа антибиотик гентамицин сулфат (50 µg/ml) По желание могат да бъдат добавени допълнителни антибиотици.

АЛИКВОТИРАНЕ НА CHANG MEDIUM D

1. Размразете CHANG Medium D съгласно инструкциите.
2. Разпределете асептично в аликвотни части с подходящ обем и замразете отново.
3. Размразете аликвотните части във водна баня с температура 37° C, когато е необходимо да се използват.

УКАЗАНИЯ ЗА УПОТРЕБА

Използване на CHANG Medium D за първични култури: Методологии *in situ*

1. Центрофугирайте амниотичната течност при ниска скорост, за да концентрирате клетките.
2. Ресуспендирайте пелетата от клетки в малък обем амниотична течност от самия пациент. Например аспирирайте супернатанта на 10 ml центрофугирана амниотична течност до 0,5 ml над пелетата от клетки и ресуспендирайте. Добавете достатъчно CHANG Medium D към концентрираната суспензия на клетки, за да остане окончателен обем за нанасяне от 0,5 ml на покривно стъкло (общо 4 покривни стъкла), или 2 ml на слайд-флакон.
3. Инкубирайте културите в покой при 37° C, 5% – 8% CO₂ атмосфера.
4. В ден 2 залейте културите, като добавите 2 ml CHANG Medium D.
5. След 4 до 5 дни културите трябва да бъдат проверени за растеж. След като бъде установен растеж, културите трябва да се захранват. Хранете културите, като отстранявате целия супернатант на културата и го заменяте с 2 ml прясна CHANG Medium D. Препоръчва се културите да се захранват на всеки 2 дни след това.
6. Проверете културите за растеж във или след ден 5 и съберете, когато се наблюдават достатъчно колонии.
7. Най-добри резултати се постигат, когато културите се захранват с CHANG Medium D в деня преди събирането.

Използване на CHANG Medium D за първични култури: Методологии със слайд-флакон

1. Центрофугирайте амниотичната течност при ниска скорост, за да концентрирате клетките.
2. Ресуспендирайте пелетата от клетки в малък обем амниотична течност от самия пациент. Например аспирирайте супернатанта на 10 ml центрофугирана амниотична течност до 1 ml над пелетата от клетки и ресуспендирайте. Добавете 4 ml CHANG Medium D за общ обем от 5 ml на слайд-флакон.
3. Инкубирайте културите в покой при 37° C, 5% – 8% CO₂ атмосфера.
4. Проверете за растеж в ден 5. Сменете средата с прясна CHANG Medium D и съберете, ако се наблюдава достатъчен растеж на клетките.
5. Проверявайте културите за растеж и сменяйте изцяло средата всеки ден след това, докато се установят достатъчно колонии и са готови за събиране.
6. Най-добри резултати се постигат, когато културите се захранват с CHANG Medium D в деня преди събирането.

Използване на CHANG Medium D за растеж на пасажни клетки от амниотична течност:

За пасаж на клетките третирайте културите с трипсин (или проназа и др.), както обикновено бихте направили, когато клетките растат в конвенционална среда. Третирането с протеаза обаче трябва да се наблюдава внимателно. Клетките от амниотична течност, растящи в CHANG Medium D, показват тенденция да са по-чувствителни към третиране с протеаза от клетките от амниотична течност, растящи в конвенционална среда. Може да е необходимо да модифицирате своя протокол, за да вземете това предвид.

Нивото на pH на средата, използвана за захранване на културите, трябва да е между 6,8 – 7,2 (т.е. средата трябва да е с леко жълтеникаво-розово-оранжево цвят). Нивото на pH може лесно да се регулира чрез поставяне на средата в 5% – 8% CO₂ инкубатор с леко разхлабена капачка за около 30 минути.

Забележка: Кристали калциев оксалат често се формират в CHANG Medium D. Няма данни наличието на тези кристали да причинява неблагоприятен ефект върху функционалността на продукта.

CHANG Medium D съдържа антибиотик гентамицин сулфат. Трябва да се предприемат необходимите предпазни мерки, за да се гарантира, че пациентът не е сенсibiliзиран към този антибиотик.

СЪХРАНЕНИЕ И СТАБИЛНОСТ

Съхранявайте CHANG Medium D замразена при -10° C. Неизползваната CHANG Medium D може да бъде замразена отново или съхранявана при 2° C до 8° C.

Пазете от флуоресцентна светлина.

Вижте етикета на бутилката за конкретния срок на годност. CHANG Medium D може да бъде замразена отново максимум 2 пъти и съхранявана замразена при 2° C до 8° C за 14 дни, без това да засегне нейната функция. Съхраняване за период, по-дълъг от 14 дни, не се препоръчва.

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.

Не използвайте бутилка, чиято стерилна опаковка е нарушена.

Не използвайте CHANG Medium D след изтичане на срока на годност, посочен на опаковката.

HRVATSKI

INDIKACIJE ZA UPOTREBU

CHANG Medium D s gentamicinom može se upotrebljavati za sljedeće primjene:

1. primarnu kulturu stanica amnijske tekućine
2. uzgoj supkultiviranih stanica amnijske tekućine
3. kulturu stanica koštane srži
4. kruto amnijsko tkivo dobiveno biopsijom korionskih resica.

Ovaj medij osmišljen je za upotrebu u CO₂ inkubatorima (kulture uravnotežene atmosferom s 5 %² – 8 % CO₂).

Završna pH vrijednost mora biti 6,8 – 7,2.

OPIS PROIZVODA

CHANG Medium D razvijen je za uzgoj primarne kulture stanica ljudske amnijske tekućine u svrhu kariotipizacije i drugih prenatalnih genetskih testiranja. Ova formula optimirana je za metode u tkivici i *in situ*. CHANG Medium D sadrži antibiotik gentamicinsulfat (50 µg/ml).

KOMPONENTE

<u>Aminokiseline</u>	Testosteron	<u>Vitaminski i elementi</u>
Alanin	Beta estradiol	<u>u tragovima</u>
Arginin	Hidrokortizon	Askorbinska
Asparagin		kiselina
Aspartatna	<u>Ostalo</u>	Folna kiselina
kiselina	Biotin	Nikotinamid
Cistein	Etilni alkohol	Riboflavin
Glutamatna	Tironin	Tijamin
kiselina		Pantotenska
Glutamin	<u>Antioksidans</u>	kiselina
Glicin	Lipoična kiselina	Kobalamin
Histidin		Pridoksin
Izoleucin	<u>Nukleinski</u>	
Leucin	<u>kiseline</u>	<u>Soli i ioni</u>
Lizin	Deoksiadenozin	Natrijev klorid
Metionin	Deoksicitidin	Natrijev selenit
Fenilalanin	Deoksigvanozin	Kalcijev klorid
Prolin	Adenozin	Kolinijev klorid
Serin	Citidin	Kalijev klorid
Treonin	Gvanozin	Magnezijev sulfat
Triptofan	Timidin	Natrijev fosfat
Tirozin	Uridin	
Valin		<u>Pufer</u>
	<u>Energetski</u>	Natrijev
	<u>supstrati</u>	hidrogenkarbonat
<u>Proteini, hormoni</u>	<u>Glukoza</u>	
<u>i čimbenici rasta</u>	Piruvat	<u>Antibiotik</u>
Fetalni govedji	Inozitol	Gentamicinsulfat
serum (FBS)		
Serum teladi	<u>pH indikator</u>	<u>Voda</u>
Fibroblastni	Fenol crveno	Kvaliteta u skladu
čimbenik rasta		s propisanim za
(FGF)		vodu za injekcije
Inzulin		
Progesteron		

OSIGURANJE KVALITETE

STERILNOST

Serum koji se koristi za proizvodnju proizvoda CHANG Medium D testiran je na kontaminaciju virusima u skladu sa Zakonikom saveznih propisa SAD-a (CFR), Glava 9., dio 113.53. Uz to, testiran je i na mikoplazme. CHANG Medium D steriliziran je filtracijom kroz filter od 0,1 mikron. Uzorci proizvoda CHANG Medium D testirani su na moguću bakteriološku kontaminaciju nakon provedbe protokola testiranja sterilnosti koji je opisan u važećem testu sterilnosti u skladu s Farmakopejom Sjedinjenih Američkih Država, USP <71>.

PRIPREMA ZA UPOTREBU

1. Brzo odmrznuti proizvod CHANG Medium D mučkajući bočicu u vodenoj kupelji temperiranoj na 37 °C.
2. CHANG Medium D sadrži antibiotik gentamicinsulfat (50 µg/ml). Po želji se mogu dodati dodatni antibiotici.

ALIKVOTIRANJE PROIZVODA CHANG MEDIUM D

1. Odmrznuti proizvod CHANG Medium D u skladu s uputama.
2. Aseptički raspodijeliti u alikvotne odgovarajućih veličina i ponovno zamrznuti.
3. Odmrznuti alikvotne u vodenoj kupelji temperiranoj na 37 °C kada ih želite upotrijebiti.

UPUTE ZA UPOTREBU

Upotreba proizvoda CHANG Medium D za primarne kulture: metode *in situ*

1. Centrifugirati amnijsku tekućinu pri maloj brzini kako bi se stanice koncentrirale.
2. Obnoviti suspenziju taloga stanica u malom volumenu pacijentične vlastite amnijske tekućine. Na primjer, aspirirati supernatant 10 ml centrifugirane amnijske tekućine do razine od 0,5 ml iznad taloga stanica i obnoviti suspenziju. Dodati odgovarajuću količinu proizvoda CHANG Medium D koncentriranoj suspenziji stanica kako bi se postigao konačan volumen nasadivanja od 0,5 ml po pokrovnom stakalcu (ukupno 4 pokrovna stakalca) ili od 2 ml po bočici za kulturu.
3. Neometano inkubirati kulture pri 37 °C u atmosferi s 5 % – 8 % CO₂.
4. Drugi dan natopiti kulture dodavanjem 2 ml proizvoda CHANG Medium D.
5. Nakon 4 do 5 dana provjeriti rast kultura. Hraniti kulture nakon što se zabilježi rast. Za hranjenje kultura ukloniti sav supernatant kulture i zamijeniti ga s 2 ml svježeg proizvoda CHANG Medium D. Preporučuje se da se nakon toga kulture hrane svaka 2 dana.
6. Peti dan ili nakon petog dana provjeriti rast kultura i prikupiti ih kada bude zabilježena dovoljna količina kolonija.
7. Najbolji rezultati postižu se kada se kulture hrane proizvodom CHANG Medium D dan prije prikupljanja.

Upotreba proizvoda CHANG Medium D za primarne kulture: metode u tkivici

1. Centrifugirati amnijsku tekućinu pri maloj brzini kako bi se stanice koncentrirale.
2. Obnoviti suspenziju taloga stanica u malom volumenu pacijentične vlastite amnijske tekućine. Na primjer, aspirirati supernatant 10 ml centrifugirane amnijske tekućine do razine od 1 ml iznad taloga stanica i obnoviti suspenziju. Dodati 4 ml proizvoda CHANG Medium D kako bi se postigao ukupan volumen od 5 ml po tkivici.
3. Neometano inkubirati kulture pri 37 °C u atmosferi s 5 % – 8 % CO₂.
4. Peti dan provjeriti rast kultura. Zamijeniti medij svježim proizvodom CHANG Medium D i prikupiti kulture ako je zabilježen dovoljan rast stanica.
5. Nakon toga svaki dan provjeravati rast kultura i u potpunosti mijenjati medij dok ne bude zabilježena dovoljna količina kolonija spremnih za prikupljanje.
6. Najbolji rezultati postižu se kada se kulture hrane proizvodom CHANG Medium D dan prije prikupljanja.

Upotreba proizvoda CHANG Medium D za uzgoj supkultiviranih stanica amnijske tekućine:

za supkultiviranje stanica tretirati kulture tripsinom (ili pronazom itd.) kao što se inače radi za uzgoj stanica u uobičajenom mediju. Međutim, potrebno je pažljivo nadzirati tretiranje proteazom. Stanice amnijske tekućine uzgojene u proizvodu CHANG Medium D često su osjetljivije na tretiranje proteazom nego što su to stanice amnijske tekućine uzgojene u uobičajenom mediju. Možda ćete trebati prilagoditi svoj protokol kako biste navedeno uzeli u obzir.

pH vrijednost medija koji se koristi za hranjenje kultura mora biti između 6,8 i 7,2 (tj. medij mora biti žućkastoružičaste boje). pH se može jednostavno prilagoditi postavljanjem medija u inkubator s 5 % – 8 % CO₂ u posudi s lagano odvrnutim poklopcem na otprilike 30 minuta.

Napomena: uobičajeno je da se u proizvodu CHANG Medium D formiraju kristali kalcijeva oksalata. Nije zabilježeno da prisutnost tih kristala ima ikakvo štetno djelovanje na performanse proizvoda.

CHANG Medium D sadrži antibiotik gentamicinsulfat. Potrebno je poduzeti odgovarajuće mjere opreza kako bi se osiguralo da pacijent nije osjetljiv na ovaj antibiotik.

POHRANA I STABILNOST

Proizvod CHANG Medium D pohranjivati u zamrznutom stanju na -10 °C. Neupotrijebljeni proizvod CHANG Medium D može se ponovno zamrznuti ili pohraniti na 2 °C – 8 °C.

Zaštiti od fluorescentnog svjetla.

Rok valjanosti potražite na oznaci na boci. Proizvod CHANG Medium D smije se ponovno zamrzavati najviše 2 puta i pohranjivati u odmrznutom stanju na 2 °C – 8 °C 14 dana i to neće utjecati na funkcionalnost proizvoda. Ne preporučuje se pohranjivati ga duže od 14 dana.

MJERE OPREZA I UPOZORENJA

Predviđeno je da se ovim proizvodom koristi osoblje osposobljeno za postupke koji uključuju primjenu za koju je namijenjen ovaj proizvod.

Ne upotrebljavati bocu na kojoj je sterilno pakiranje oštećeno.

Ne upotrebljavati proizvod CHANG Medium D nakon isteka roka valjanosti navedenog na oznaci.

MALTI

INDIKAZZJONI GHALL-UŻU

CHANG Medium D with Gentamicin jista' jiġi użat għall-applikazzjonijiet li ġejjin:

- il-kultura primarja ta' ċelloli tal-fluwidu amnjotiku
- it-tkabbir ta' ċelloli sottokultivati tal-fluwidu amnjotiku
- il-kultura ta' ċelloli tal-mudullun
- lessut amnjotiku solidu minn kampjuni ta' villi korjonici.

Dan il-medium ġie ddisinjat għall-użu f'inkubaturi tal-CO₂ (kolturi ekwilibriati b'atmosfera ta' 5%-8% CO₂).

Il-pH finali trid tkun bejn 6.8-7.2.

DESKRIZZJONI TAL-APPARAT

CHANG Medium D ġie żviluppat għall-kultura primarja ta' ċelloli tal-fluwidu amnjotiku u man għall-użu fid-determinazzjoni tal-karjotip u testijiet ġenetiċi oħra ta' qabel it-twelid. Din il-formula ġiet ottimizzata kemm għall-metodoloġiji fil-flask kif ukoll in situ. CHANG Medium D fih l-antibijotiku Gentamicin Sulfate (50 µg/mL).

KOMPONENTI

Ċidri Amminici	Progesterone	Vitamini u mikroelementi
Alanine	Testosterone	Ascorbic acid
Arginine	Beta estradiol	Folic acid
Asparagine	Hydrocortisone	Nicotinamide
Aspartic Acid		Riboflavin
Cysteine	Qhrain	Thiamine
Glutamic Acid	Threonine	Pantothenic acid
Glutamine	Ethyl alcohol	Cobalamin
Glycine	Thyronine	Pyridoxine
Histidine	Antiossidant	
Isoleucine	Thioctic acid	
Leucine		Imluha u Joni
Lysine		Sodium chloride
Methionine	Ċidri nukleji	Sodium selenite
Phenylalanine	Deoxyadenosine	Calcium chloride
Proline	Deoxycytidine	Calcium chloride
Serine	Deoxyguanosine	Potassium chloride
Threonine	Adenosine	chloride
Tryptophan	Cytidine	Magnesium sulfate
Tyrosine	Guanosine	Sodium phosphate
Valine	Thymidine	
	Uridine	Bafer
		Sodium bicarbonate

Proteini, Ormoni u Fatturi ta' Tkabbir	Substrati tal-Energija	Antibijotiku
Fetal bovine serum (FBS)	Glucose	Gentamicin Sulfate
Bovine calf serum	Pyruvate	
Fattur ta' tkabbir tal-fibroblast (FGF)	Inositol	
Insulina	Indikator tal-pH	
	Phenol Red	

ASSIGURAZZJONI TAL-KWALITÀ

STERILITÀ

Serum użat fil-produzzjoni ta' CHANG Medium D ġie ttestjat għall-kontaminazzjoni mill-virusi skont CFR Titolu 9 Taqsima 113.53. Gie skrinjat ukoll għall-mikoplazma. CHANG Medium D jiġi sterilizzat permezz ta' filtrazzjoni minn ġo filtru ta' 0.1 mikron. Kampjuni ta' CHANG Medium D jiġu ttestjati għall-possibbiltà ta' kontaminazzjoni batterjoloġika skont il-protokoll ta' ttestjar għall-sterilità deskritt fit-test atwali tal-USP għall-sterilità <71>.

PREPARAZZJONI GHALL-UŻU

- Holl CHANG Medium D malajr billi ddawwar il-flixkun f'banjumarija f'temperatura ta' 37°C.
- CHANG Medium D fih l-antibijotiku Gentamicin Sulfate (50 µg/mL). Jistgħu jidjeddu antibijotici addizzjonali jekk ikun mixtieq.

L-UŻU TA' ALIKWOTI TA' CHANG MEDIUM D

- Holl iċ-CHANG Medium D skont l-istruzzjonijiet.
- Qassam b' mod asettiku f' alikwoti ta' daqs konvenjenti u erga' ffriza.
- Holl l-alikwoti f'banjumarija f'temperatura ta' 37°C meta jkunu se jintużaw.

ISTRUZZJONIJET DWAR L-UŻU

L-Użu ta' CHANG Medium D għal Kulturi Primarji: Metodoloġiji *in situ*

- Iċċentrifuga l-fluwidu amnjotiku f'veloċità baxxa biex tikkoncentra ċ-ċelloli.
- Erga' s'sospendi l-gerbuba taċ-ċelloli f'volum żgħir tal-fluwidu amnjotiku tal-pazjent stess. Pereżempju, aspira s-supernatante ta' 10 mL tal-fluwidu amnjotiku ċċentrifugat sa 0.5 mL 'l fuq mill-gerbuba taċ-ċelloli u erga' s'sospendi. Żid ammont suffiċjenti ta' CHANG

Medium D lis-sospensjoni taċ-ċelloli kkoncentrati sabiex ikun hemm volum ta' plakkatura finali ta' 0.5 mL għal kull coverslip (total ta' 4 coverslips) jew 2 mL għal kull flasketta.

- Inkuba l-kolturi minghajr qaċliq f'temperatura ta' 37°C f'atmosfera ta' 5%-8% CO₂.
- Għarraġ il-kolturi fit-tieni (2) jum' billi żżid 2 mL ta' CHANG Medium D.
- Wara 4 jew 5 jjiem, għandu jiġi ċċekkjat kemm kibru l-kolturi. Il-kolturi għandhom jiġu misqija malli jiġi osservat li bdew jikbru. Isqi l-kolturi billi tneħħi s-supernatant kollu tal-kultura u tbiddu b' 2 mL ta' CHANG Medium D frisk. Huwa rrakkomandat li mbagħad il-kolturi jiġu misqijin kull jumejn.
- Iċċekkja kemm kibru l-kolturi fil-jew wara 1-5 jum meta jiġi osservat numru suffiċjenti ta' kolonji.
- Jinkisbu l-aħjar riżultati meta l-kolturi jiġu misqijin b'CHANG Medium D fil-jum ta' qabel il-hsad.

L-Użu ta' CHANG Medium D għal Kulturi Primarji: Metodoloġiji fil-Flask

- Iċċentrifuga l-fluwidu amnjotiku f'veloċità baxxa biex tikkoncentra ċ-ċelloli.
- Erga' s'sospendi l-gerbuba taċ-ċelloli f'volum żgħir tal-fluwidu amnjotiku tal-pazjent stess. Pereżempju, aspira s-supernatante ta' 10 mL tal-fluwidu amnjotiku ċċentrifugat sa 1 mL 'l fuq mill-gerbuba taċ-ċelloli u erga' s'sospendi. Żid 4 mL ta' CHANG Medium D għal volum totali ta' 5 mL għal kull flask.
- Inkuba l-kolturi minghajr qaċliq f'temperatura ta' 37°C f'atmosfera ta' 5%-8% CO₂.
- Fil-5 jum iċċekkja kemm kibru. Biddel il-medium b'CHANG Medium D frisk u ahsad jekk jiġi osservat tkabbir suffiċjenti taċ-ċelloli.
- Iċċekkja kemm kibru l-kolturi u mbagħad biddel il-medium kompletament kull jum sakemm jiġi osservat numru suffiċjenti ta' kolonji u jkunu lesti għall-hsad.
- Jinkisbu l-aħjar riżultati meta l-kolturi jiġu misqijin b'CHANG Medium D fil-jum ta' qabel il-hsad.

L-użu ta' CHANG Medium D għat-Tkabbir ta' Ċelloli Sottokultivati tal-Fluwidu Amnjotiku: Għas-sottokultivazzjoni taċ-ċelloli, ittratta l-kolturi bitrypsin (jew pronase, eċċ) bħalma jsir normalment meta ċ-ċelloli jtkabru f'medium konvenzjonali. Madankollu, it-trattament bil-protease għandu jiġi mmonitorjat bir-reqqa. Ċelloli tal-fluwidu amnjotiku mkabbra f'CHANG Medium D għandhom tendenza li jkunu iktar sensitivi għat-trattament bil-protease minn ċelloli tal-fluwidu amnjotiku mkabbra f'medium konvenzjonali. Jista' jkun meħtieġ li l-protokoll tiegħek jiġi mmodifikat sabiex jittiehed akkont ta' dan.

Il-pH tal-medium użat biex jittma' lill-kolturi jrid ikun bejn 6.8–7.2 (jiġifri l-medium irid ikun ta' kulur ftit safrani-fis-salamun). Il-pH jista' jiġi aġġustat b' mod hafif billi tpoġġi l-medium ġo inkubatur ta' 5%–8% CO₂ bit-tapp maħlul fit għal madwar 30 minuta.

Nota: Kristalli ta' calcium oxalate ta' spiss jiffurmaw f'CHANG Medium D. Il-preżenza ta' dawn il-kristalli ma jidherx li tikkawża effetti detrimntali fuq il-prestazzjoni tal-prodott.

CHANG Medium D fih l-antibijotiku Gentamicin Sulfate. Għandhom jittieħdu l-prekawzjonijiet xierqa sabiex jiġi żgurat li l-pazjent mhuxwieg sensitizzat għal dan l-antibijotiku.

HAŻNA U STABILITÀ

Aħzen CHANG Medium D iffrizat f'temperatura ta' -10°C. CHANG Medium D li ma tnużax jista' jerga' jiġi ffrizat jew maħżun f'temperatura ta' 2°C sa 8°C.

Ipproteġi minn dawl fluworexxenti.

Ara t-tikketta fuq il-flixkun għad-data ta' skadenza speċifika. CHANG Medium D jista' jerga' jiġi ffrizat sa massimu ta' darbejtn (2) u maħżun mhux iffrizat f'temperatura ta' 2°C sa 8°C għal 14-il jum minghajr ma tiġi affettwata l-funzjoni tiegħi. Mhux irrakkomandat li jinħażen għal iktar minn 14-il jum.

PREKAWZJONIJET U TWISSIJJET

Dan l-apparat huwa maħsub għall-użu minn persunal imbarreġ fi proċeduri li jinkludu l-applikazzjoni indikata li għaliha huwa maħsub l-apparat.

M'għandek tuża l-ebda flixkun li l-imballaġġ sterili tiegħu jkun ġie kprompress.

M'għandek tuża CHANG Medium D wara d-data ta' skadenza indikata fuq il-tikketta.

SLOVENŠČINA

INDIKACIJE ZA UPORABO

Medij CHANG Medium D z gentamicinom se lahko uporablja za naslednje aplikacije:

- primarna kultura celic amnijske tekočine,
- gojene pasażirane celice amnijske tekočine,
- kultura celic kostnega mozga,
- trdno amnijsko tkivo iz vzorcev horionskih resic.

Ta medij je zasnovan za uporabo v CO₂-inkubatorjih (kulture, uravnotežene v atmosferi s 5–8 % CO₂).

Končni pH mora biti 6,8–7,2.

OPIS PRIPOMOČKA

Medij CHANG Medium D je razvit za primarno kulturo humanih celic amnijske tekočine za uporabo pri določanju kariotipa in drugih antenatalnih genskih testih. Ta formula je optimizirana za metodologije z bučkami in metodologije *in situ*. CHANG Medium D vsebuje antibiotik gentamicinijev sulfat (50 µg/ml).

KOMPONENTE

Aminokisljine	Progesteron	Vitamini in elementi v sledovih
Alanin	Testosteron	Askorbinska kislina
Arginin	Beta-estradiol	Folna kislina
Asparagin	Hidrokortizon	Nikotinamid
Asparaginska kislina	Drugo	Riboflavin
Cistein	Biotin	Tiamin
Glutaminska kislina	Etilni alkohol	Pantotenska kislina
Glutamin	Tironin	Kobalamin
Glicin	Antioksidant	Piridoksin
Histidin	Tioktčna kislina	
Izolevcin	Nukleinske kisline	
Lizin	Deoksiadenozin	Soli in ioni
Metionin	Deoksicitidin	Natrijev klorid
Fenilalanin	Deoksigvanozin	Natrijev selenit
Prolin	Adenozin	Kalcijev klorid
Serin	Citidin	Holiniklorid
Treonin	Gvanozin	Kalijev klorid
Triptofan	Timidin	Magnezijev sulfat
Tirozin	Uridin	Natrijev fosfat
Valin	Pufer	Natrijev bikarbonat
	Energijski substrati	
Beljakovine, hormoni in rastni faktorji	Glukoza	Antibiotik
Serum govejega zarodka (FBS)	Piruvat	Gentamicinijev sulfat
Telečji serum	Inozitol	
Fibroblastni rastni faktor (FGF)	Indikator vrednosti pH	Voda
Inzulin	Fenol rdeče	Kakovost, ki ustreza vodi za injekcije

ZAGOTAVLJANJE KAKOVOSTI

STERILNOST

Serum, uporabljen pri proizvodnji medija CHANG Medium D, je testiran za virusno kontaminacijo po standardu CFR, naslov 9, del 113.53. Testiran je tudi glede mikoplazemske kontaminacije. CHANG Medium D je steriliziran s filtracijo skozi 0,1-mikronski filter. Vzorci medija CHANG Medium D so testirani za morebitno bakteriološko kontaminacijo po protokolu za testiranje sterilnosti, opisanem v trenutni USP za testiranje sterilnosti <71>.

PRIPRAVA ZA UPORABO

- Hitro odalite medij CHANG Medium D tako, da sukate steklenico v vodni kopeli s temperaturo 37 °C.
- CHANG Medium D vsebuje antibiotik gentamicinijev sulfat (50 µg/ml). Po želji lahko dodate še več antibiotikov.

ALIKVOTIRANJE MEDIJA CHANG MEDIUM D

- Medij CHANG Medium D dodajte po navodilih.
- Z aseptično tehniko ga porazdelite na alikvote primarne velikosti in ponovno zamrznite.
- Ko želite alikvote uporabiti, jih odtalite v vodni kopeli pri 37 °C.

NAVODILA ZA UPORABO

Uporaba medija CHANG Medium D za primarne kulture: Metodologije *in situ*

- Centrifugirajte amnijsko tekočino pri nizki hitrosti, da koncentrirate celice.
- Ponovno suspendirajte celično usedlino v majhnem volumnu bolnične lastne amnijske tekočine. Lahko na primer aspirirate supernatant 10 ml centrifugirane amnijske tekočine na raven 0,5 ml nad celično usedlino in ponovno suspendirate. V koncentrirano

celično suspenzijo dodajte dovolj medija CHANG Medium D, da dobite končni volumen za prevleko krovnih stekelc 0,5 ml na stekelce (skupaj 4 krovna stekelca) ali 2 ml na stekleničko.

- Nato se morajo kulture nemoteno inkubirati v atmosferi s 5–8 % CO₂ pri 37 °C.
2. dan kulture zalijte z 2 ml medija CHANG Medium D.
- Po 4 do 5 dneh preverite, ali kulture rastejo. Ko opazite rast, morate kulture nahraniti. Kulture nahranite tako, da odstranite ves supernatant kulture in ga nadomestite z 2 ml svežega medija CHANG Medium D. Priporočljivo je, da v nadaljevanju kulture nahranite vsaka 2 dni.
- Na 5. dan ali po 5. dnevu preverite, koliko so kulture zrastle, in jih spravite, ko opazite dovolj kolonij.
- Rezultat bo najboljši, če kulture nahranite z medijem CHANG Medium D en dan, preden jih spravite.

Uporaba medija CHANG Medium D za primarne kulture: Metodologije z bučkami

- Centrifugirajte amnijsko tekočino pri nizki hitrosti, da koncentrirate celice.
- Ponovno suspendirajte celično usedlino v majhnem volumnu bolnične lastne amnijske tekočine. Lahko na primer aspirirate supernatant 10 ml centrifugirane amnijske tekočine na raven 1 ml nad celično usedlino in ponovno suspendirate. Dodajte 4 ml medija CHANG Medium D, da dobite celotni volumen 5 ml na bučko.
- Nato se morajo kulture nemoteno inkubirati v atmosferi s 5–8 % CO₂ pri 37 °C.
- Na 5. dan preverite rast. Medij zamenjajte s svežim medijem CHANG Medium D in spravite celice, če opazite zadostno rast.
- V nadaljevanju vsak dan preverite rast kultur in zamenjajte medij v celoti, dokler ne opazite, da je dovolj kolonij pripravljenih, da jih lahko spravite.
- Rezultat bo najboljši, če kulture nahranite z medijem CHANG Medium D en dan, preden jih spravite.

Uporaba medija CHANG Medium D za gojene pasażirane celice amnijske tekočine: Če želite pasażirati celice, obdelajte kulture s tripsinom (ali pronazo itd.), kar bi običajno naredili pri celicah, gojenih v običajnem mediju. Vendar je treba obdelavo s proteazami skrbno spremljati. Celice amnijske tekočine, gojene v mediju CHANG Medium D, so običajno občutljivejše za obdelavo s proteazami kot celice amnijske tekočine, ki so gojene v običajnem mediju. Za upoštevanje tega boste morda morali spreminiti protokol.

Vrednost pH medija, ki se uporablja za hranjenje kultur, mora biti med 6,8 in 7,2 (tj. medij mora biti rahlo rumenkaste barve lososa). Vrednost pH zlahka prilagode tako, da medij za 30 minut postavite v inkubator s 5–8 % CO₂ (pokrovček naj bo nekoliko nprprt).

Opomba: V mediju CHANG Medium D pogosto nastanejo kristali kalcijevega oksalata, vendar prisotnost teh kristalov ni pokazala nobenih škodljivih učinkov na uporabnost izdelka.

CHANG Medium D vsebuje antibiotik gentamicinijev sulfat. Izvesti je treba ustrezne previdnostne ukrepe za zagotavljanje, da bolnik ni občutljiv za ta antibiotik.

SHRANJEVANJE IN STABILNOST

Medij CHANG Medium D shranjujete zamrznjen pri –10 °C. Neuporabljen medij CHANG Medium D lahko ponovno zamrznete ali shranite pri temperaturi od 2 do 8 °C.

Zaščitite pred fluorescenčno svetlobo.

Rok uporabnosti je naveden na nalepki steklenice. Medij CHANG Medium D smete ponovno zamrzniti največ dvakrat in oddaljenega hraniti 14 dni pri temperaturi od 2 do 8 °C, ne da bi to vplivalo na njegovo delovanje. Shranjevanje za dlje kot 14 dni ni priporočljivo.

PREVIDNOSTNI UKREPI IN OPOZORILA

Ta pripomoček sme uporabljati samo osebe, usposobljeno za postopke, ki vključujejo indicirano uporabo, za katero je pripomoček zasnovan.

Ne uporabite nobene steklenice, če je njena sterilna embalaža poškodovana.

Medija CHANG Medium D ne smete uporabljati po izteku roka uporabnosti, navedenega na nalepki.