



### CHANG Medium C For Human Amniotic Fluid Cells

#### Catalog No.

**T101-019 kit includes (C100 & C107)**

**T101-059 kit includes (C101 & C109),**

**C100 (CHANG Medium Basal)**

**+C106 (CHANG Medium C Frozen Supplement-14mL),**

**C101 (CHANG Medium Basal)**

**+C108 (CHANG Medium C Frozen Supplement-70mL)**

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 diagnostyki *in vitro*.

Pentru uz diagnostic *in vitro*.

För *in vitro*-diagnostik.

*In vitro* diagnosistiliseks kasutamiseks.

*In vitro* diagnosztikai alkalmazáshoz.

Skirta *in vitro* diagnostikai.

*In vitro* diagnostik kullann için.

Na diagnostické použitie *in vitro*.

За *in vitro* диагностична употреба.

Za upotrebu *in vitro* dijagnostici.

Ghal užu 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 2-8°C for T101-019, T101-059, C100, and C101
	Storage Temperature -10°C for C106 and C108
	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.

#### INDICATION FOR USE

CHANG Medium C 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 BOTH OPEN (CULTURES EQUILIBRATED WITH A 5% CO<sub>2</sub> ATMOSPHERE) AND CLOSED CULTURE SYSTEMS (CULTURES FLOODED WITH 5% CO<sub>2</sub> AND INCUBATED WITH THE CULTURE VESSELS TIGHTLY CAPPED).

#### DEVICE DESCRIPTION

CHANG Medium C 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 OPEN AND CLOSED SYSTEMS.

#### COMPONENTS

Salts & Ions	Proteins	pH Indicator
Sodium Chloride	Hormones, and	Phenol red
Sodium Selenite	Growth Factors	Vitamins and trace elements
Calcium Chloride	Fetal bovine serum (FBS)	Ascorbic acid
Choline Chloride	Newborn bovine serum	Folic acid
Potassium Chloride	Human transferrin	Nicotinamide
Potassium Phosphate	Fibroblast growth factor (FGF)	Thiamine
Magnesium Chloride	insulin	Riboflavin
Magnesium Sulfate	Progesterone	Pantothenic acid
Sodium Phosphate	Testosterone	Cobalamin
Ferrous Sulfate	Beta estradiol	Pyridoxal
Cupric Sulfate	Hydrocortisone	Pyridoxine
Zinc Sulfate	Water	
Buffer	WFI Quality	
Sodium Bicarbonate	Other	
Amino Acids	Hypoxanthine	
Alanine	Biotin	
Arginine	Putrescine	
Asparagine	Ethyl alcohol	
Aspartic Acid	Antioxidant	
Cysteine	Thioctic acid	
Cystine	Nucleic acids	
Glutamic Acid	Deoxyadenosine	
Glutamine	Deoxycytidine	
Glycine	Deoxyguanosine	
Histidine	Adenosine	
Isoleucine	Cytidine	
Leucine	Guanosine	
Lysine	Thymidine	
Methionine	Uridine	
Phenylalanine	Energy Substrates	
Proline	Glucose	
Serine	Pyruvate	
Threonine	Inositol	
Tryptophan		
Tyrosine		
Valine		

#### QUALITY ASSURANCE

##### STERILITY

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

##### PREPARATION FOR USE

###### Lyophilized Supplement

1. Allow CHANG Medium C Lyophilized Supplement to equilibrate to room temperature.
2. Using aseptic techniques, add 10 mL or 50 mL of sterile distilled water to the lyophilizate. The 10 mL vial is for 90 mL CHANG Medium B Basal; the 50 mL vial is for 450 mL CHANG Medium B Basal.
3. Swirl the vial gently to effect complete solution. (NOTE: It may be necessary to incubate the vial at 37°C for 5 to 10 minutes to completely dissolve the supplement).
4. Aseptically transfer the entire contents of the reconstituted CHANG Medium C Supplement to the

bottle of CHANG Medium B Basal.

5. Mix the complete CHANG Medium C well by swirling the bottle.
6. Add L-Glutamine, 10.0 mL/L (200 mM). Antibiotics may be added if desired.

###### Frozen Supplement

1. Thaw CHANG Medium C Frozen Supplement rapidly by swirling vial in a 37°C water bath.
2. Aseptically transfer the entire contents of the thawed CHANG Medium C Supplement to the bottle of CHANG Medium B Basal.
3. Mix the complete CHANG Medium C well by swirling the bottle.
4. Add L-Glutamine, 10.0 mL/L (200 mM). Antibiotics may be added if desired.

###### ALIQUOTING CHANG MEDIUM C SUPPLEMENT

###### Lyophilized Supplement

If you are unable to use the complete CHANG Medium C within 10 days you may wish to make up smaller amounts by following this modification of procedure:

1. Reconstitute CHANG Medium C Lyophilized Supplement.
2. Distribute aseptically into convenient-sized aliquots and freeze.
3. Also aseptically dispense the CHANG Medium B Basal into a corresponding number of aliquots.
4. To prepare the complete CHANG Medium C, add one aliquot of thawed CHANG Medium C Supplement to one aliquot of CHANG Medium B Basal.
5. Mix well.

###### Frozen Supplement

1. Thaw CHANG Medium C Frozen Supplement.
2. Distribute aseptically into convenient-sized aliquots and refreeze. (NOTE: The supplement vial contains 14 mL or 70 mL. Distribute equally.)
3. Also aseptically dispense the CHANG Medium B Basal into a corresponding number of aliquots.
4. To prepare the complete CHANG Medium C, add one aliquot of thawed CHANG Medium C Supplement to one aliquot of CHANG Medium B Basal.
5. Mix well.

###### DIRECTIONS FOR USE

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% CO<sub>2</sub> incubator with the cap slightly loosened. The final pH must be 6.8 - 7.2.

For additional details on the use of these products, each laboratory should consult its own laboratory procedures and protocols which have been specifically developed and optimized for your individual medical program.

###### Use of CHANG Medium C 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 C 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% CO<sub>2</sub> atmosphere.
4. Flood cultures on day 2 by adding 2 mL of CHANG Medium C.
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 of fresh CHANG Medium C. 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 C the day before the harvest.

###### Use of CHANG Medium C for Primary Cultures: Flask Methodologies

1. Centrifuge amniotic fluid at low speed to concentrate 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 C for a total volume of 5 mL per flask.
3. Incubate cultures undisturbed at 37°C 5% CO<sub>2</sub> atmosphere.
4. Check for growth on day 5. Change medium with fresh CHANG Medium C and harvest if sufficient cell growth is observed.
5. Check cultures for growth and completely change medium every other 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 C the day before the harvest.

NOTE: For closed systems, flush each culture flask with 5% CO<sub>2</sub> - 95% air for 20 seconds. Tighten the caps to the culture flasks and incubate them at 37°C. (It is recommended that a sterile plugged pasteur pipet be attached to the CO<sub>2</sub> source to ensure sterility of the incoming gas.)

###### Use of CHANG Medium C 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 C 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.

###### STORAGE AND STABILITY

Store CHANG Medium C Frozen Supplement at below -10°C, CHANG Medium C Lyophilized Supplement at 2°C to 8°C, CHANG Medium B Basal at 2°C to 8°C, and complete CHANG Medium C at 2°C to 8°C. The CHANG Medium B Basal must not be frozen.

Protect from fluorescent light.

See individual component bottle labels for specific expiration dates. Complete CHANG Medium C may be stored at 2°C to 8°C for 10 days before use without affecting its function. Storage for longer than 10 days is not recommended.

DO NOT FREEZE COMPLETE CHANG MEDIUM C.

###### 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 CHANG Medium C components beyond the expiration date indicated on the individual labels.

## DEUTSCH

### INDIKATIONEN

CHANG Medium C kann für die folgenden Anwendungen verwendet werden:

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

DIESES MEDIUM WURDE FÜR DIE VERWENDUNG IN SOWOHL OFFENEN (IN EINER 5%IGEN CO<sub>2</sub>-ATMOSPHERE ÄQUILIBRIERTE KULTUREN) ALS AUCH GESCHLOSSENEN KULTURSYSTEMEN ENTWICKELT (KULTUREN, DIE MIT 5 % CO<sub>2</sub> ÜBERSCHWEMMT UND BEI FEST MIT EINER KAPPE VERSCHLOSSENEN KULTURGEFÄSSEN INKUBIERT WURDEN).

### PRODUKTBESCHREIBUNG

Das CHANG Medium C wurde für die Primärkultur von menschlichen Fruchtwasserzellen zur Verwendung bei der Karyotypisierung und für andere pränatale genetische Tests entwickelt. DIESE ZUSAMMENSETZUNG WURDE FÜR OFFENE UND GESCHLOSSENE SYSTEME OPTIMIERT.

### INHALTSSTOFFE

<u>Salze und Ionen</u>	<u>Proteine,</u>	<u>Energiesubstrate</u>
Natriumchlorid	<u>Hormone und</u>	Glukose
Natriumselenit	<u>Wachstumsfaktoren</u>	Pyruvat
Calciumchlorid	Fetales	Inositol
Cholinchlorid	Kälberserum (FBS)	<u>pH-Indikator</u>
Kaliumchlorid	Serum von	Phenolrot
Kaliumphosphat	neugeborenen	<u>Vitamine und</u>
Magnesiumchlorid	Rindern	<u>Spurenelemente</u>
Magnesiumsulfat	Humanes	Ascorbinsäure
Natriumphosphat	Transferrin	Folsäure
Eisensulfat	Fibroblastenwach-	Nikotinamid
Kupfersulfat	tumsfaktor	Riboflavin
Zinksulfat	Insulin	Thiamin
<u>Puffer</u>	Progesteron	Pantothensäure
Natriumbicarbonat	Testosteron	Cobalamin
<u>Aminosäuren</u>	Beta-Estradiol	
Alanin	Hydrokortison	Pyridoxal
Arginin	<u>Wasser</u>	Pyridoxin
Asparagin	Wasser für	
Asparaginsäure	Injektionszwecke	
Cystein	(WFI)	
Cystin	<u>Andere</u>	
Glutaminsäure	Hypoxanthin	
Glutamin	Biotin	
Glycin	Putrescin	
Histidin	Ethylalkohol	
Isoleucin	<u>Antioxidans</u>	
Leucin	Thioctansäure	
Lysin	<u>Nukleinsäuren</u>	
Methionin	Desoxyadenosin	
Phenylalanin	Desoxycytidin	
Prolin	Desoxyguanosin	
Serin	Adenosin	
Threonin	Cytidin	
Tryptophan	Guanosin	
Tyrosin	Thymidin	
Valin	Uridin	

### QUALITÄTSSICHERUNG

#### STERILITÄT

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

### VORBEREITUNG

#### Lyophilisierte Ergänzung

1. Die lyophilisierte Ergänzung CHANG Medium C auf Raumtemperatur äquilibrieren lassen.
2. Mithilfe von aseptischen Techniken 10 ml oder 50 ml steriles destilliertes Wasser zum Lyophilisat hinzugeben. Das 10-ml-Fläschchen ist für 90 ml CHANG Medium B Basal; das 50-ml-Fläschchen ist für 450 ml CHANG Medium B Basal.

3. Das Fläschchen für eine vollständige Lösung leicht schwenken. (HINWEIS: Das Fläschchen muss ggf. bei 37 °C für 5 bis 10 Minuten inkubiert werden, um die Ergänzung vollständig aufzulösen.)
4. Den gesamten Inhalt des rekonstituierten CHANG Medium C Supplement mit aseptischen Techniken in die Flasche mit CHANG Medium B Basal übertragen.
5. Das gesamte CHANG Medium C durch Schwenken der Flasche gut mischen.
6. 10,0 ml/l (200 mM) L-Glutamin hinzugeben. Bei Bedarf können Antibiotika hinzugefügt werden.

#### Gefrorene Ergänzung

1. Die gefrorene Ergänzung CHANG Medium C schnell auftauen, das Fläschchen dazu in einem 37 °C warmen Wasserbad schwenken.
2. Den gesamten Inhalt des aufgetauten CHANG Medium C Supplement mit aseptischen Techniken in die Flasche mit CHANG Medium B Basal übertragen.
3. Das gesamte CHANG Medium C durch Schwenken der Flasche gut mischen.
4. 10,0 ml/l (200 mM) L-Glutamin hinzugeben. Bei Bedarf können Antibiotika hinzugefügt werden.

#### ALIKOTIEREN DES CHANG MEDIUM C SUPPLEMENT

##### Lyophilisierte Ergänzung

Wenn nicht das ganze CHANG Medium C innerhalb von 10 Tagen verwendet werden kann, können mithilfe der folgenden Änderung des Verfahrens kleinere Mengen zusammengestellt werden:

1. Die lyophilisierte Ergänzung CHANG Medium C rekonstituieren.
2. Mit aseptischen Techniken in handliche Aliquote verteilen und einfrieren.
3. Außerdem das CHANG Medium B Basal mit aseptischen Techniken in eine entsprechende Anzahl von Aliquoten verteilen.
4. Um ein vollständiges CHANG Medium C vorzubereiten, ein Aliquot des aufgetauten CHANG Medium C Supplement in ein Aliquot des CHANG Medium B Basal geben.
5. Gründlich mischen.

##### Gefrorene Ergänzung

1. Die gefrorene Ergänzung CHANG Medium C auftauen.
2. Mit aseptischen Techniken in handliche Aliquote verteilen und erneut einfrieren. (HINWEIS: Das Ergänzungsfläschchen enthält 14 ml oder 70 ml. Den Inhalt gleichmäßig verteilen.)
3. Außerdem das CHANG Medium B Basal mit aseptischen Techniken in eine entsprechende Anzahl von Aliquoten verteilen.
4. Um ein vollständiges CHANG Medium C vorzubereiten, ein Aliquot des aufgetauten CHANG Medium C Supplement in ein Aliquot des CHANG Medium B Basal geben.
5. Gründlich mischen.

#### GEBRAUCHSANWEISUNG

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 in einen 5–8%igen CO<sub>2</sub>-Inkubator mit leicht gelöster Kappe gestellt wird. Der endgültige pH-Wert muss zwischen 6,8 und 7,2 liegen.

Weitere Einzelheiten zum Gebrauch dieser Produkte sind den Verfahren und Vorschriften des jeweiligen Labors zu entnehmen, die eigens für das jeweilige medizinische Programm entwickelt und optimiert wurden.

#### Verwendung von CHANG Medium C 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 C 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%igen CO<sub>2</sub>-Atmosphäre inkubieren.
4. Die Kulturen an Tag 2 überspülen, indem 2 ml CHANG Medium C 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 C 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 C genährt werden.

#### Verwendung von CHANG Medium C für Primärkulturen: Flaschen-Methoden

1. Das Fruchtwasser bei geringer Geschwindigkeit zentrifugieren, um 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 C für ein Gesamtvolumen von 5 ml in die Flasche geben.
3. Die Kulturen ungestört bei 37 °C in einer 5%igen CO<sub>2</sub>-Atmosphäre inkubieren.
4. An Tag 5 auf Wachstum prüfen. Das Medium durch frisches CHANG Medium C ersetzen und die Kulturen entnehmen, wenn ausreichend Zellwachstum festgestellt wird.
5. Die Kulturen auf Wachstum prüfen und danach jeden zweiten 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 C genährt werden.

HINWEIS: Bei geschlossenen Systemen jede Kulturflasche mit 5 % CO<sub>2</sub> und 95 % Luft 20 Sekunden lang ausspülen. Die Kulturflaschen mit den Kappen fest verschließen und bei 37 °C inkubieren. (Es wird empfohlen, eine sterile gestopfte Pasteurpipette an die CO<sub>2</sub>-Quelle anzubringen, um die Sterilität des eintretenden Gases sicherzustellen.)

#### Verwendung von CHANG Medium C für wachsende passagierte 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 C 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.

#### LAGERUNG UND STABILITÄT

Das gefrorene Ergänzung CHANG Medium C unter -10 °C, die lyophilisierte Ergänzung CHANG Medium C zwischen 2 °C und 8 °C, das CHANG Medium B Basal zwischen 2 °C und 8 °C und das Complete CHANG Medium C zwischen 2 °C und 8 °C lagern. Das CHANG Medium B Basal darf nicht eingefroren werden. Keinem Fluoreszenzlicht aussetzen.

Die spezifischen Verfallsdaten auf den Etiketten der jeweiligen Komponentenflaschen beachten. Das Complete CHANG Medium C kann bei 2 °C bis 8 °C 10 Tage lang ohne Verwendung gelagert werden, ohne dass seine Funktion beeinträchtigt wird. Eine Lagerung für mehr als 10 Tage wird nicht empfohlen.

DAS COMPLETE CHANG MEDIUM C NICHT EINFRIEREN.

#### 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.

Die CHANG Medium C-Komponenten nicht nach dem auf den einzelnen Etiketten angegebenen Verfallsdatum verwenden.

**INDICAZIONI PER L'USO**

CHANG Medium C 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 SIA IN SISTEMI APERTI (COLTURE EQUILIBRATE IN ATMOSFERA CON IL 5% DI CO<sub>2</sub>) CHE IN SISTEMI CHIUSI (COLTURE SOTTO FLUSSO CON IL 5% DI CO<sub>2</sub> E INCUBATE IN SUPPORTI CHIUSI ERMETICAMENTE).

**DESCRIZIONE DEL DISPOSITIVO**

CHANG Medium C 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 SISTEMI SIA APERTI CHE CHIUSI.

**COMPONENTI**Sali e ioni

Cloruro di sodio  
Selenito di sodio  
Cloruro di calcio  
Cloruro di colina  
Cloruro di potassio  
Fosfato di potassio  
Cloruro di magnesio  
Solfato di magnesio  
Fosfato di sodio  
Solfato di ferro  
Solfato di rame  
Solfato di zinco

Tampone

Bicarbonato di sodio

Aminoacidi

Alanina  
Arginina  
Asparagina  
Acido aspartico  
Cisteina  
Cistina  
Acido glutammico  
Glutammina  
Glicina  
Istidina  
Isoleucina  
Leucina  
Lisina  
Metionina  
Fenilalanina  
Prolina  
Serina  
Treonina  
Triptofano  
Tirosina  
Valina

Proteine, ormonie fattori di crescita

Siero bovino fetale  
Siero bovino neonatale  
Transferrina umana  
Fattore di crescita dei fibroblasti  
Insulina  
Progesterone  
Testosterone  
Beta estradiolo  
Idrocortisone

Acqua

Qualità WFI (acqua

per iniezioni)

Altro

Ipoxantina  
Biotina  
Putrescina  
Alcol etilico  
Antiossidante  
Acido tiotico  
Acidi nucleici  
Deossiadenosina  
Deossicitidina  
Deossiguanosina  
Adenosina  
Citidina  
Guanosina  
Timidina  
Uridina  
Substrati energetici  
Glucosio  
Piruvato  
Inositolo

Indicatore di pH

Rosso fenolo  
Vitamine ed elementi in tracce  
Acido ascorbico  
Acido folico  
Nicotinamide  
Riboflavina  
Tiamina  
Acido pantotenico  
Cobalamina  
Piridossale  
Piridossina

4. Trasferire in condizioni asettiche l'intero contenuto di CHANG Medium C supplemento ricostituito nel flacone di CHANG Medium B Basal.
5. Miscelare accuratamente CHANG Medium C completo agitando il flacone.
6. Aggiungere L-glutammina, 10,0 ml/l (200 mM). È possibile aggiungere antibiotici, se lo si ritiene necessario.

**Supplemento congelato**

1. Scongelerare rapidamente CHANG Medium C supplemento agitando il flacone in un bagno d'acqua a 37 °C.
2. Trasferire in condizioni asettiche l'intero contenuto di CHANG Medium C supplemento scongelato nel flacone di CHANG Medium B Basal.
3. Miscelare accuratamente CHANG Medium C completo agitando il flacone.
4. Aggiungere L-glutammina, 10,0 ml/l (200 mM). È possibile aggiungere antibiotici, se lo si ritiene necessario.

**SUDDIVISIONE DI CHANG MEDIUM C****SUPPLEMENT IN ALIQUOTE****Supplemento liofilizzato**

Qualora non fosse possibile utilizzare CHANG Medium C completo entro 10 giorni, è consigliabile ricostituire quantità inferiori modificando la procedura come segue:

1. Ricostituire CHANG Medium C supplemento liofilizzato.
2. Distribuire in condizioni asettiche in aliquote appropriate e congelare.
3. Dispensare, sempre in condizioni asettiche, anche CHANG Medium B Basal in un numero di aliquote corrispondenti.
4. Per preparare CHANG Medium C completo, aggiungere un'aliquota di CHANG Medium C supplemento scongelato a un'aliquota di CHANG Medium B Basal.
5. Miscelare accuratamente.

**Supplemento congelato**

1. Scongelerare CHANG Medium C supplemento.
2. Distribuire in condizioni asettiche in aliquote di dimensioni appropriate e ricongelare. (NOTA: il flacone di supplemento può contenere 14 ml o 70 ml. Distribuire equamente.)
3. Dispensare, sempre in condizioni asettiche, anche CHANG Medium B Basal in un numero di aliquote corrispondenti.
4. Per preparare CHANG Medium C completo, aggiungere un'aliquota di CHANG Medium C supplemento scongelato a un'aliquota di CHANG Medium B Basal.
5. Miscelare accuratamente.

**ISTRUZIONI PER L'USO**

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 CO<sub>2</sub> al 5-8% con il tappo leggermente svitato.

Il pH finale deve essere compreso fra 6,8 e 7,2. Per ulteriori dettagli sull'uso di questi prodotti, il laboratorio deve consultare le procedure e i protocolli specificamente sviluppati e ottimizzati per il proprio programma medico.

**Uso di CHANG Medium C 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 C sufficiente a ottenere un volume finale nella piastra di 0,5 ml per ogni vetrino coprioggetti (totale di 4 vetrini coprioggetti) o 2 ml per ogni minifiasca.
3. Incubare le colture indisturbate a 37 °C in atmosfera al 5% di CO<sub>2</sub>.

4. Al giorno 2, aggiungere alle colture 2 ml di CHANG Medium C.
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 C 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 C il giorno prima della raccolta.

**Uso di CHANG Medium C 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 C per raggiungere un volume totale di 5 ml per fiasca.
3. Incubare le colture indisturbate a 37 °C in atmosfera al 5% di CO<sub>2</sub>.
4. Verificare la crescita al giorno 5. Sostituire il terreno con CHANG Medium C fresco e raccogliere se si osserva una crescita cellulare sufficiente.
5. Verificare la crescita delle colture; successivamente sostituire completamente il terreno a giorni alterni 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 C il giorno prima della raccolta.

NOTA: per sistemi chiusi, irrigare ogni fiaschetta culturale con aria al 5% di CO<sub>2</sub> per 20 secondi. Avvitare accuratamente i tappi delle fiasche e incubare a 37 °C (si raccomanda di collegare una pipetta Pasteur sterile alla fonte di CO<sub>2</sub> per garantire la sterilità del gas in ingresso).

**Uso di CHANG Medium C 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 C sono generalmente più sensibili al trattamento con proteasi di quelle coltivate in terreno convenzionale. In ragione di ciò, potrebbe essere necessario modificare il protocollo.

**CONSERVAZIONE E STABILITÀ**

Conservare CHANG Medium C supplemento congelato a una temperatura inferiore a -10 °C, CHANG Medium C supplemento liofilizzato, CHANG Medium B Basal e CHANG Medium C completo a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C. CHANG Medium B Basal non deve essere congelato.

Proteggere da luce fluorescente.

Le date di scadenza specifiche sono indicate sulle etichette dei flaconi dei singoli componenti. Complete CHANG Medium C può essere conservato a 2-8 °C per 10 giorni prima dell'uso senza comprometterne le prestazioni. Si raccomanda di non conservare per oltre 10 giorni.

NON CONGELARE COMPLETE CHANG MEDIUM C.

**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 utilizzare i componenti di CHANG Medium C dopo la data di scadenza indicata sulle rispettive etichette.



**INDICACIÓN DE USO**

El CHANG Medium C 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 SISTEMAS DE CULTIVO ABIERTOS (CULTIVOS EQUILIBRADOS EN UNA ATMÓSFERA CON UN 5 % DE CO<sub>2</sub>) Y CERRADOS (CULTIVOS INUNDADOS CON UN 5 % DE CO<sub>2</sub> E INCUBADOS CON RECIPIENTES DE CULTIVO HERMÉTICAMENTE CERRADOS).

**DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO**

El CHANG Medium C 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 TANTO PARA SISTEMAS ABIERTOS COMO CERRADOS.

**COMPONENTES**

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

- a 37 °C durante 5 a 10 minutos para disolver completamente el suplemento.)
4. Llevar en condiciones asépticas todo el contenido reconstituido del CHANG Medium C Supplement al frasco del CHANG Medium B Basal.
5. Mezclar bien por balanceo el frasco del CHANG Medium C completo.
6. Añadir L-glutamina, 10,0 ml/l (200 mM). Se pueden añadir antibióticos si se desea.

**Suplemento congelado**

1. Descongelar rápidamente el suplemento congelado del CHANG Medium C mediante balanceo del vial en un baño de agua a 37 °C.
2. Llevar en condiciones asépticas todo el contenido descongelado del CHANG Medium C Supplement al frasco de CHANG Medium B Basal.
3. Mezclar bien por balanceo el frasco del CHANG Medium C completo.
4. Añadir L-glutamina, 10,0 ml/l (200 mM). Se pueden añadir antibióticos si se desea.

**DIVIDIR EN ALÍCUOTAS EL CHANG MEDIUM C SUPPLEMENT Lyophilized Supplement**

Si no llega a utilizar el CHANG Medium C completo en un plazo de 10 días, es posible que desee preparar porciones más pequeñas aplicando esta modificación del procedimiento:

1. Reconstituir el CHANG Medium C Lyophilized Supplement.
2. Repartir en alícuotas de tamaño adecuado en condiciones asépticas y congelar.
3. Dispensar asimismo en condiciones asépticas el CHANG Medium B Basal en el número correspondiente de alícuotas.
4. Para preparar el CHANG Medium C completo, añadir una alícuota del CHANG Medium C Supplement descongelado a una alícuota del CHANG Medium B Basal.
5. Mezclar bien.

**Suplemento congelado**

1. Reconstituir el suplemento congelado del CHANG Medium C.
2. Repartir en alícuotas de tamaño adecuado en condiciones asépticas y volver a congelar. (NOTA: El vial del suplemento contiene 14 ml o 70 ml. Distribuir de forma equitativa.)
3. Dispensar asimismo en condiciones asépticas el CHANG Medium B Basal en el número correspondiente de alícuotas.
4. Para preparar el CHANG Medium C completo, añadir una alícuota del CHANG Medium C Supplement descongelado a una alícuota del CHANG Medium B Basal.
5. Mezclar bien.

**INSTRUCCIONES DE USO**

EL pH DEL MEDIO UTILIZADO PARA ALIMENTAR LOS CULTIVOS DEBE SITUARSE ENTRE 6,8 Y 7,2 (es decir, el medio debe tener color entre ligeramente amarillento y salmón). El pH se puede ajustar con facilidad colocando el medio (con el tapón ligeramente aflojado) en una incubadora con 5-8 % de CO<sub>2</sub>.

El pH final debe ser de 6,8-7,2. Para más detalles sobre la utilización de estos productos, consultar los protocolos y los procedimientos de su propio laboratorio, que se habrán desarrollado y optimizado específicamente de acuerdo con su programa médico particular.

**Uso del CHANG Medium C 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 C 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 frasquito.

3. Incubar los cultivos sin perturbaciones a 37 °C en una atmósfera con 5 % de CO<sub>2</sub>.
4. Inundar los cultivos el día 2 añadiendo 2 ml del CHANG Medium C.
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 C. 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 nutren con el CHANG Medium C el día antes de la cosecha.

**Uso del CHANG Medium C 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 C hasta un volumen total de 5 ml por frasco.
3. Incubar los cultivos sin perturbaciones a 37 °C en una atmósfera con 5 % de CO<sub>2</sub>.
4. Comprobar el crecimiento en el día 5. Cambiar el medio por el CHANG Medium C 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 dos días hasta que las colonias alcancen un número suficiente y estén listas para la cosecha.
6. Los mejores resultados se obtienen cuando los cultivos se nutren con el CHANG Medium C el día antes de la cosecha.

NOTA: En sistemas cerrados, purgar cada frasco de cultivo con 5 % de CO<sub>2</sub> - 95 % de aire durante 20 segundos. Apriete los tapones de los frascos de cultivo e incube a 37 °C. (Se recomienda conectar una pipeta Pasteur estéril taponada a la toma de CO<sub>2</sub> para garantizar la esterilidad del gas entrante).

**Uso del CHANG Medium C 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 C 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.

**CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD**

Conservar el suplemento congelado del CHANG Medium C a menos de -10 °C, el suplemento liofilizado del CHANG Medium C a 2-8 °C, el CHANG Medium B Basal a 2-8 °C, y el CHANG Medium C completo a 2-8 °C. El CHANG Medium B Basal no se debe congelar. Proteger de la luz fluorescente.

Consultar las etiquetas de cada frasco con los componentes para saber las fechas de caducidad concretas. El CHANG Medium C completo se puede conservar a una temperatura de 2-8 °C durante 10 días antes de su uso sin que se afecte su función. No se recomienda su almacenamiento durante más de 10 días. NO CONGELAR EL CHANG MEDIUM C COMPLETO.

**PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS**

Este producto lo debe utilizar personal con formación en procedimientos que incluyan el uso previsto del producto. No utilizar los componentes del CHANG Medium C más allá de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta respectiva.

**GARANTÍA DE CALIDAD**

**ESTERILIDAD**

El suero utilizado en la producción del CHANG Medium C Supplement 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. Tanto el CHANG Medium B Basal como el CHANG Medium C Supplement se esterilizan por filtración a través de un filtro de 0,1 µm. Se analizan muestras representativas del CHANG Medium B Basal y CHANG Medium C Supplement 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**

**Lyophilized Supplement**

1. Dejar que el CHANG Medium C Lyophilized Supplement se equilibre a temperatura ambiente.
2. Con una técnica aséptica, añadir 10 ml o 50 ml de agua destilada estéril al liofilizado. El vial de 10 ml es para 90 ml del CHANG Medium B Basal; el vial de 50 ml es para 450 ml del CHANG Medium B Basal.
3. Agitar el vial con suavidad para su disolución completa. (NOTA: a veces hay que incubar el vial

## FRANÇAIS

### INDICATION D'UTILISATION

CHANG Medium C 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 chorales de la membrane amniotique.

CE MILIEU A ÉTÉ CONÇU POUR ÊTRE UTILISÉ DANS DES SYSTÈMES DE CULTURE OUVERTE (CULTURES ÉQUILIBRÉES DANS UNE ATMOSPHÈRE À 5 % DE CO<sub>2</sub>) ET FERMÉE (CULTURES INONDÉES AVEC 5 % DE CO<sub>2</sub> ET INCUBÉES DANS LES FLACONS FERMÉS HÉRMIQUEMENT).

### DESCRIPTION DU DISPOSITIF

CHANG Medium C 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 SYSTÈMES OUVERTS ET FERMÉS.

### COMPOSANTS

Sels et ions	Protéines, hormones et facteurs de croissance	Indicateur de pH
Chlorure de sodium		Rouge de phénol
Sélénite de sodium		Vitamines et oligo-éléments
Chlorure de calcium	Sérum de veau fœtal (SVF)	Acide ascorbique
Chlorure de choline	Sérum de veau naissant	Acide folique
Chlorure de potassium	Transferrine humaine	Nicotinamide
Phosphate de potassium	Facteur de croissance des fibroblastes	Riboflavine
Chlorure de magnésium	Insuline	Thiamine
Sulfate de magnésium	Progesterone	Acide pantothénique
Phosphate de sodium	Testostérone	Cobalamine
Chlorure de fer	Bêta-estradiol	Pyridoxal
Sulfate de cuivre	Hydrocortisone	Pyridoxine
Sulfate de zinc	Eau	
Tampon	Qualité WFI	
Bicarbonate de sodium	Autre	
Acides aminés	Hypoxanthine	
Alanine	Biotine	
Arginine	Putrescine	
Asparagine	Alcool éthylique	
Acide aspartique	Antioxydant	
Cystéine	Acide thiocétique	
Cystine	Acides nucléiques	
Acide glutamique	Désoxyadénosine	
Glutamine	Désoxycytidine	
Glycine	Adénosine	
Histidine	Cytidine	
Isoleucine	Guanosine	
Leucine	Thymidine	
Lysine	Uridine	
Méthionine	Substrats	
Phénylalanine	énergétiques	
Proline	Glucose	
Sérine	Pyruvate	
Thréonine	Inositol	
Tryptophane		
Tyrosine		
Valine		

### ASSURANCE QUALITÉ

#### STÉRILITÉ

Le sérum utilisé dans la fabrication du supplément de CHANG Medium C 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 les contaminations par mycoplasme. Le milieu de base de CHANG Medium B et le supplément de CHANG Medium C sont stérilisés par filtration avec des filtres de 0,1 µm. Des échantillons de milieu de base de CHANG Medium B et de supplément de CHANG Medium C 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

#### Supplément lyophilisé

1. Permettre au supplément lyophilisé de CHANG Medium C de s'équilibrer à température ambiante.
2. En utilisant des techniques aseptiques, ajouter 10 ml ou 50 ml d'eau distillée stérile au lyophilisat. Le tube

de 10 ml correspond à 90 ml de milieu de base de CHANG Medium B ; le tube de 50 ml correspond à 450 ml de milieu de base de CHANG Medium B.

3. Agiter légèrement le tube pour bien mélanger la solution. (REMARQUE : il peut être nécessaire d'incuber le tube à 37 °C pendant 5 à 10 minutes pour dissoudre complètement le supplément.)
4. Transférer stérilement le contenu complet du supplément de CHANG Medium C reconstitué dans le tube de milieu de base de CHANG Medium B.
5. Mélanger bien le milieu complet de CHANG Medium C en agitant le tube.
6. Ajouter de la glutamine L (concentration de 10 ml/l, soit 200 mM). Des antibiotiques peuvent également être ajoutés, le cas échéant.

#### Supplément congelé

1. Décongeler rapidement le supplément congelé de CHANG Medium C en agitant le tube dans un bain-marie à 37 °C.
2. Transférer stérilement le contenu complet du supplément décongelé de CHANG Medium C dans le tube de milieu de base de CHANG Medium B.
3. Mélanger bien le milieu complet de CHANG Medium C en agitant le tube.
4. Ajouter de la glutamine L (concentration de 10 ml/l, soit 200 mM). Des antibiotiques peuvent également être ajoutés, le cas échéant.

### PRÉPARATION D'ALIQUOTES DE SUPPLÉMENT DE CHANG MEDIUM C

#### Supplément lyophilisé

Si le milieu complet de CHANG Medium C n'est pas utilisé dans sa totalité dans les 10 jours, le répartir en petites quantités en suivant le protocole ci-dessous :

1. Reconstituer le supplément lyophilisé de CHANG Medium C.
2. Répartir stérilement en plusieurs aliquotes de taille appropriée et congeler.
3. Répartir stérilement le milieu de base de CHANG Medium B en un nombre égal d'aliqotes.
4. Préparer le milieu complet de CHANG Medium C en ajoutant une aliquote de supplément décongelé de CHANG Medium C à une aliquote de milieu de base de CHANG Medium B.
5. Bien mélanger.

#### Supplément congelé

1. Décongeler le supplément congelé de CHANG Medium C.
2. Répartir stérilement en plusieurs aliquotes de taille appropriée et recongeler. (REMARQUE : le flacon de supplément contient 14 ml ou 70 ml. Répartir équitablement.)
3. Répartir stérilement le milieu de base de CHANG Medium B en un nombre égal d'aliqotes.
4. Préparer le milieu complet de CHANG Medium C en ajoutant une aliquote de supplément décongelé de CHANG Medium C à une aliquote de milieu de base de CHANG Medium B.
5. Bien mélanger.

### MODE D'EMPLOI

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 CO<sub>2</sub> (5 à 8 %), le bouchon légèrement dévissé.

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

Pour plus de détails sur l'utilisation de ces produits, chaque laboratoire doit consulter ses propres procédures et protocoles standard qui ont été spécialement élaborés et optimisés pour chaque établissement médical particulier.

### Utilisation de CHANG Medium C 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 C 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 CO<sub>2</sub> à 5 %.
4. Inonder les cultures le deuxième jour en ajoutant 2 ml de CHANG Medium C.
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 C 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 C la veille de la collecte.

### Utilisation de CHANG Medium C 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 C pour obtenir un volume total de 5 ml par flacon.
3. Incuber les cultures sans agitation à 37 °C en atmosphère de CO<sub>2</sub> à 5 %.
4. Vérifier la croissance des cultures le cinquième jour. Changer le milieu avec du CHANG Medium C 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 deux 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 C la veille de la collecte.

REMARQUE : pour les systèmes de culture fermée, rincer chaque flacon de culture avec un mélange de 5 % de CO<sub>2</sub> et de 95 % d'air pendant 20 secondes. Bien visser les bouchons des flacons de culture et les incuber à 37 °C. (Il est recommandé de fixer une pipette Pasteur avec tampon ouaté stérile à la source de CO<sub>2</sub> pour s'assurer de la stérilité du gaz entrant.)

### Utilisation de CHANG Medium C 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 C 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.

### CONSERVATION ET STABILITÉ

Conserver le supplément congelé de CHANG Medium C en dessous de -10 °C et le supplément lyophilisé de CHANG Medium C, le milieu de base de CHANG Medium B et le milieu complet de CHANG Medium C entre 2 et 8 °C. Le milieu de base de CHANG Medium B ne doit pas être congelé.

Protéger de la lumière fluorescente.

Consulter la date de péremption de chaque composant sur les étiquettes de leur flacon respectif. Le milieu complet de CHANG Medium C peut être conservé entre 2 et 8 °C pendant 10 jours avant son utilisation sans que ses fonctions en soient compromises. La conservation au-delà de 10 jours n'est pas recommandée.

NE PAS CONGELER LE MILIEU COMPLET DE CHANG MEDIUM C.

### 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 les composants de CHANG Medium C au-delà de la date de péremption indiquée sur les étiquettes de leur flacon respectif.

## PORTUGUÊS

### INDICAÇÃO DE UTILIZAÇÃO

O CHANG Medium C 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 SER UTILIZADO EM SISTEMAS DE CULTURA ABERTOS (CULTURAS EQUILIBRADAS COM UMA ATMOSFERA DE 5% DE CO<sub>2</sub>) E SISTEMAS DE CULTURA FECHADOS (CULTURAS INUNDADAS COM 5% DE CO<sub>2</sub> E INCUBADAS COM OS RECIPIENTES DE CULTURA BEM TAPADOS).

### DESCRIÇÃO DO DISPOSITIVO

O CHANG Medium C 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 TANTO PARA SISTEMAS ABERTOS COMO FECHADOS.

### COMPONENTES

<b>Sais e íões</b>	<b>Proteínas, hormonas e fatores de crescimento</b>	<b>Substratos energéticos</b>
Cloreto de sódio	Soro bovino fetal (FBS)	Glucose
Selenito de sódio	Soro bovino neonatal	Piruvato
Cloreto de cálcio	Transferrina humana	Inositol
Cloreto de colina	Fator de crescimento dos fibroblastos (FGF)	<b>Indicador de pH</b>
Cloreto de potássio	Insulina	Vermelho de fenol
Fosfato de potássio	Progesterona	<b>Vitaminas e oligoelementos</b>
Cloreto de magnésio	Testosterona	Ácido ascórbico
Sulfato de magnésio	Beta-estradiol	Ácido fólico
Fosfato de sódio	Hidro cortisona	Nicotinamida
Sulfato ferroso	<b>Água</b>	Riboflavina
Sulfato cúprico	Qualidade	Tiamina
Sulfato de zinco	WFI (água p/ preparações injetáveis)	Ácido pantoténico
<b>Tampão</b>	<b>Outro</b>	Cobalamina
Bicarbonato de sódio	Hipoxantina	Piridoxal
<b>Aminoácidos</b>	Glutamina	Piridoxina
Alanina	Glicina	
Arginina	Histidina	
Asparagina	Isoleucina	
Ácido aspártico	Leucina	
Cisteína	Lisina	
Cistina	Metionina	
Ácido glutâmico	Fenilalanina	
Glutamina	Prolina	
Glicina	Serina	
Histidina	Treonina	
Isoleucina	Triptofano	
Leucina	Tirosina	
Lisina	Valina	
Metionina		
Fenilalanina		
Prolina		
Serina		
Treonina		
Triptofano		
Tirosina		
Valina		

### GARANTIA DE QUALIDADE

#### ESTERILIDADE

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

### PREPARAÇÃO PARA UTILIZAÇÃO

#### Suplemento liofilizado

1. Deixe o suplemento liofilizado CHANG Medium C atingir a temperatura ambiente.
2. Adicione 10 ml ou 50 ml de água destilada estéril ao liofilizado, utilizando técnicas assépticas. O tubo de 10 ml destina-se ao CHANG Medium B Basal de 90 ml e o tubo de 50 ml destina-se ao CHANG Medium B Basal de 450 ml.

3. Gire o tubo suavemente para obter a solução completa. (NOTA: pode ser necessário incubar o tubo a 37 °C durante 5 a 10 minutos para dissolver totalmente o suplemento.)
4. Transfira asseticamente todo o conteúdo do suplemento CHANG Medium C reconstituído para o frasco de CHANG Medium B Basal.
5. Gire o frasco para misturar bem o CHANG Medium C completo.
6. Adicione L-glutamina, 10,0 ml/l (200 mM). Se pretender, pode adicionar antibióticos.

#### Suplemento congelado

1. Descongele o suplemento congelado CHANG Medium C rapidamente, girando o frasco em banheira a 37 °C.
2. Transfira asseticamente todo o conteúdo do suplemento CHANG Medium C descongelado para o frasco de CHANG Medium B Basal.
3. Gire o frasco para misturar bem o CHANG Medium C completo.
4. Adicione L-glutamina, 10,0 ml/l (200 mM). Se pretender, pode adicionar antibióticos.

### DIVIDIR EM ALIQUOTAS O SUPLEMENTO CHANG MEDIUM C

#### Suplemento liofilizado

Se não conseguir utilizar o CHANG Medium C completo dentro de 10 dias, pode desejar preparar menores quantidades, seguindo esta modificação do procedimento:

1. Reconstitua o suplemento liofilizado CHANG Medium C.
2. Distribua asseticamente em alíquotas de tamanho conveniente e congele.
3. Dispense igualmente de forma assética o CHANG Medium B Basal num número de alíquotas correspondente.
4. Para preparar o CHANG Medium C completo, adicione uma alíquota de suplemento CHANG Medium C descongelado a uma alíquota de CHANG Medium B Basal.
5. Misture bem.

#### Suplemento congelado

1. Descongele o suplemento congelado CHANG Medium C.
2. Distribua asseticamente em alíquotas de tamanho conveniente e volte a congelar. (NOTA: o tubo de suplemento contém 14 ml ou 70 ml. Distribua de forma igualitária.)
3. Dispense igualmente de forma assética o CHANG Medium B Basal num número de alíquotas correspondente.
4. Para preparar o CHANG Medium C completo, adicione uma alíquota de suplemento CHANG Medium C descongelado a uma alíquota de CHANG Medium B Basal.
5. Misture bem.

### INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

O pH DO MEIO UTILIZADO PARA ALIMENTAÇÃO DAS CULTURAS TEM DE SE SITUAR ENTRE 6,8 E 7,2 (ou seja, a cor do meio tem de ser ligeiramente amarelada a salmão). O ajuste do pH pode ser facilmente efetuado, colocando o meio numa incubadora com 5%–8% de CO<sub>2</sub> com a tampa ligeiramente desapertada.

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

Para obter mais informações sobre a utilização destes produtos, cada laboratório deve consultar os respetivos procedimentos e protocolos que tenham sido concebidos e otimizados especificamente para o seu programa médico.

### Utilização do CHANG Medium C 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 C 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 2 ml por frasco de cultura.

3. Incube as culturas sem interferência a 37 °C numa atmosfera de 5% de CO<sub>2</sub>.
4. Inunde as culturas no 2.º dia, adicionando 2 ml de CHANG Medium C.
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 C 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 C no dia anterior à colheita.

### Utilização do CHANG Medium C 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 C para um volume total de 5 ml por frasco.
3. Incube as culturas sem interferência a 37 °C numa atmosfera de 5% de CO<sub>2</sub>.
4. Verifique se existe crescimento no 5.º dia. Substitua o meio por CHANG Medium C fresco e efetue a colheita caso se observe um crescimento de células suficiente.
5. Verifique o crescimento das culturas e substitua totalmente o meio em dias alternados 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 C no dia anterior à colheita.

NOTA: no caso de sistemas fechados, irrigue cada frasco de cultura com 5% de CO<sub>2</sub>–95% de ar durante 20 segundos. Aperte as tampas dos frascos de cultura e incube-os a 37 °C. (Recomenda-se a ligação de uma pipeta de Pasteur estéril rolhada à fonte de CO<sub>2</sub> para garantir a esterilidade do gás que entra.)

### Utilização do CHANG Medium C 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 C 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.

### CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE

ConsERVE o suplemento congelado CHANG Medium C a uma temperatura inferior a -10 °C, o suplemento liofilizado CHANG Medium C entre 2 °C e 8 °C, o CHANG Medium B Basal entre 2 °C e 8 °C e o CHANG Medium C completo entre 2 °C e 8 °C. O CHANG Medium B Basal não pode ser congelado. Proteger da luz fluorescente.

Consulte os prazos de validade específicos nos rótulos dos frascos de cada componente. O CHANG Medium C completo pode ser conservado entre 2 °C e 8 °C durante 10 dias antes da utilização, sem que a sua função seja afetada. Não se recomenda um período de conservação superior a 10 dias.

NÃO CONGELE O CHANG MEDIUM C COMPLETO.

### PRECAUÇÕES E ADVERTÊNCIAS

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

Não utilize os componentes do CHANG Medium C para além do prazo de validade indicado nos rótulos individuais.



## ΕΛΛΗΝΙΚΑ

### ΕΝΔΕΙΞΗ ΧΡΗΣΗΣ

Το CHANG Medium C μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τις παρακάτω εφαρμογές:

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

ΤΟ ΜΕΣΟ ΑΥΤΟ ΕΧΕΙ ΣΧΕΔΙΑΣΤΕΙ ΓΙΑ ΧΡΗΣΗ ΣΕ ΑΝΟΙΚΤΑ (ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ ΙΣΟΡΡΟΠΗΜΕΝΕΣ ΜΕ ΑΤΜΟΣΦΑΙΡΑ 5% CO<sub>2</sub>) ΚΑΙ ΚΛΕΙΣΤΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ (ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ ΓΕΜΙΣΜΕΝΕΣ ΜΕ 5% CO<sub>2</sub> ΚΑΙ ΕΠΙΔΩΣΜΕΝΕΣ ΜΕ ΤΑ ΔΟΧΕΙΑ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ ΣΦΙΧΤΑ ΠΩΜΑΤΙΣΜΕΝΑ).

### ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΗΣ ΣΥΣΚΕΥΗΣ

Το CHANG Medium C αναπτύχθηκε για την πρωτογενή καλλιέργεια ανθρώπινων κυττάρων αμνιακού υγρού για χρήση σε καρυοτυποποίηση και άλλες προγεννητικές γενετικές εξετάσεις. ΑΥΤΗ Η ΣΥΝΘΕΣΗ ΕΧΕΙ ΒΕΛΤΙΣΤΟΠΟΙΗΘΕΙ ΓΙΑ ΑΝΟΙΚΤΑ ΚΑΙ ΚΛΕΙΣΤΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ.

## ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ

<u>Άλατα και ιόντα</u> Χλωριούχο νάτριο Σκληρικό νάτριο Χλωριούχο ασβέστιο Χλωριούχος χολίνη Χλωριούχο κάλιο Φωσφορικό κάλιο Χλωριούχο μαγνήσιο Θεϊκό μαγνήσιο Φωσφορικό νάτριο Θεϊκός σίδηρος Θεϊκός χαλκός Θεϊκός ψευδάργυρος <u>Ευθιμιαστικό διάλυμα</u> Διπτανθρακικό νάτριο <u>Αμινοξέα</u> Αλανίνη Αργινίνη Ασπαράγινη Ασπαρτικό οξύ Κυστεΐνη Κυστίνη Γλουταμικό οξύ Γλουταμίνη Γλυκίνη Ιστιδίνη Ισολευκίνη Λευκίνη Λυσίνη Μεθειονίνη Φαινυλαλανίνη Προλίνη Σερίνη Θρεονίνη Τρυπτοφάνη Τυροσίνη Βαλίνη	<u>Πρωτεΐνες, ορμόνες και αυξητικοί παράγοντες</u> Ορός από έμβρυο βοοειδών (FBS) Ορός από νεογνό βοοειδών Ανθρώπινη μεταφερρίνη Αυξητικός παράγοντας ενδοβλαστών (FGF) Ινσουλίνη Τροποερόνη Τεστοστερόνη Βήτα οιστραδιόλη Υδροκορτιζόνη <u>Νερό</u> Ποιότητα ενέσιμου ύδατος (WFI) <u>Άλλα</u> Υποξανθίνη Βιοτίνη Πουτρεσκίνη Αιθυλική αλκοόλη <u>Αντιοξειδωτικό</u> Θεϊοκτικό οξύ <u>Νουκλεϊκά οξέα</u> Δεοξυδεοσίνη Δεοξυκυτιδίνη Δεοξυουρασίνη Αδενοσίνη Κυτιδίνη Γουανοσίνη Θυμιδίνη Ουριδίνη <u>Ενεργειακά υποστρώματα</u> Γλυκόζη Πυροσταφυλικό Ινοσιτόλη	<u>Δείκτης pH</u> Ερυθρό της φαινόλης <u>Βιταμίνες και ιχνοστοιχεία</u> Ασκορβικό οξύ Φυλλικό οξύ Νικοτιναμίδη Ριβοφλαβίνη Θειαμίνη Παντοθενικό οξύ Κοβαλαμίνη Πυριδοξάλη Πυριδοξίνη
--	--	---

### ΔΙΑΣΦΑΛΙΣΗ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ

#### ΣΤΕΙΡΟΤΗΤΑ

Ο ορός που χρησιμοποιείται στην παραγωγή του συμπληρώματος CHANG Medium C έχει ελεγχθεί για ιογενή μόλυνση σύμφωνα με το CFR Title 9 Part 113.53. Έχει επίσης εξεταστεί για μόλυνση από μυκόπλασμα. Τόσο το CHANG Medium B Basal όσο και το συμπλήρωμα CHANG Medium C έχουν αποστειρωθεί μέσω διήθησης με φίλτρο 0,1 μικρομέτρων. Αντιπροσωπευτικά δείγματα του CHANG Medium B Basal και του συμπληρώματος CHANG Medium C ελέγχονται για πιθανή βακτηριολογική μόλυνση, ακολουθώντας το πρωτόκολλο δοκιμσίας στεριότητας που περιγράφεται στην τρέχουσα δοκιμασία στεριότητας κατά USP <71>.

### ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΧΡΗΣΗΣ

#### Λυοφιλοποιημένο συμπλήρωμα

- Αφήστε το λυοφιλοποιημένο συμπλήρωμα CHANG Medium C να ισορροπήσει σε θερμοκρασία δωματίου
- Χρησιμοποιώντας άσηπτες τεχνικές, προσθέστε 10 mL ή 50 mL αποστειρωμένου απεσταγμένου νερού στο λυοφιλοποιημένο υλικό. Το φιαλίδιο των 10 mL προορίζεται για 90 mL CHANG Medium B Basal. Το φιαλίδιο των 50 mL προορίζεται για 450 mL CHANG Medium B Basal.
- Περιδινίστε το φιαλίδιο με ήπιες κινήσεις για να δημιουργήσετε πλήρες διάλυμα. (ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Μπορεί να χρειαστεί να επώασετε το φιαλίδιο στους 37 °C για 5 έως 10 λεπτά, ώστε να διαλυθεί πλήρως το συμπλήρωμα).
- Μεταφέρετε υπό άσηπτες συνθήκες όλα τα περιεχόμενα του ανασυσταμένου συμπληρώματος CHANG Medium C στη φιάλη του CHANG Medium B Basal.
- Αναμίξτε καλά το πλήρες CHANG Medium C περιδινίζοντας τη φιάλη.
- Προσθέστε L-γλουταμίνη, 10.0 mL/L (200 mM). Μπορείτε να προσθέσετε αντιβιοτικά αν το επιθυμείτε.

#### Κατεψυγμένο συμπλήρωμα

- Αποψύξτε το κατεψυγμένο συμπλήρωμα CHANG Medium C γρήγορα, περιδινίζοντας το φιαλίδιο σε υδατόλουτρο θερμοκρασίας 37 °C.
- Μεταφέρετε υπό άσηπτες συνθήκες όλα τα περιεχόμενα του αποψυγμένου συμπληρώματος CHANG Medium C στη φιάλη του CHANG Medium B Basal.
- Αναμίξτε καλά το πλήρες CHANG Medium C περιδινίζοντας τη φιάλη.
- Προσθέστε L-γλουταμίνη, 10.0 mL/L (200 mM). Μπορείτε να προσθέσετε αντιβιοτικά αν το επιθυμείτε.

#### ΔΙΑΜΟΙΡΑΣΜΟΣ ΤΟΥ ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑΤΟΣ CHANG MEDIUM C ΣΕ ΚΛΑΣΜΑΤΑ Λυοφιλοποιημένο συμπλήρωμα

Αν δεν μπορείτε να χρησιμοποιήσετε την πλήρη ποσότητα του CHANG Medium C εντός 10 ημερών, μπορεί να θέλετε να δημιουργήσετε μικρότερες ποσότητες, ακολουθώντας την εξής τροποποίηση της διαδικασίας:

- Ανασυστήστε το λυοφιλοποιημένο συμπλήρωμα CHANG Medium C.
- Διανείμετε, υπό άσηπτες συνθήκες, σε πρακτικού μεγέθους κλάσματα και καταψύξτε.
- Διανείμετε, επίσης υπό άσηπτες συνθήκες, το CHANG Medium B Basal σε αντίστοιχο αριθμό κλασμάτων.
- Για να προετοιμάσετε το πλήρες CHANG Medium C, προσθέστε ένα κλάσμα αποψυγμένου συμπληρώματος CHANG Medium C σε ένα κλάσμα CHANG Medium B Basal.
- Αναμείξτε καλά.

#### Κατεψυγμένο συμπλήρωμα

- Αποψύξτε το κατεψυγμένο συμπλήρωμα CHANG Medium C.
- Διανείμετε, υπό άσηπτες συνθήκες, σε πρακτικού μεγέθους κλάσματα και καταψύξτε τα ξανά. (ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Το φιαλίδιο συμπληρώματος περιέχει 14 mL ή 70 mL. Διανείμετε ισότιμα.)
- Διανείμετε, επίσης υπό άσηπτες συνθήκες, το CHANG Medium B Basal σε αντίστοιχο αριθμό κλασμάτων.
- Για να προετοιμάσετε το πλήρες CHANG Medium C, προσθέστε ένα κλάσμα αποψυγμένου συμπληρώματος CHANG Medium C σε ένα κλάσμα CHANG Medium B Basal.
- Αναμείξτε καλά.

#### ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ

ΤΟ ΡΗ ΤΟΥ ΜΕΣΟΥ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΕΙΤΑΙ ΓΙΑ ΤΗ ΘΡΕΨΗ ΤΩΝ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ ΠΡΕΠΕΙ ΝΑ ΕΙΝΑΙ ΜΕΤΑΞΥ 6,8 - 7,2 (δηλαδή το μέσο πρέπει να έχει ελαφρώς κίτρινο χρώμα σολμού). Το pH μπορεί να ρυθμιστεί εύκολα, τοποθετώντας το μέσο σε επωαστήρα 5% - 8% CO<sub>2</sub> με το πάμα ελαφρώς χαλαρό. Το τελικό pH πρέπει να είναι 6,8 - 7,2.

Για πρόσθετες λεπτομέρειες σχετικά με τη χρήση των προϊόντων αυτών, κάθε εργαστήριο θα πρέπει να συμβουλευτεί τις δικές του εργαστηριακές διαδικασίες και πρωτόκολλα, τα οποία έχουν αναπτυχθεί και βελτιστοποιηθεί ειδικά για το δικό του ιατρικό πρόγραμμα.

#### Χρήση του CHANG Medium C για πρωτογενείς καλλιέργειες: In situ μεθοδολογίες

- Φυγοκεντρίστε το αμνιακό υγρό σε χαμηλή ταχύτητα, για συμπύκνωση των κυττάρων.
- Επαναλάβετε την εναιώρηση του κυτταρικού συσσωματώματος σε μικρό όγκο αμνιακού υγρού, 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 C στο συμπυκνωμένο κυτταρικό εναιώρημα για να παρασχεθεί τελικός όγκος επίστρωσης 0,5 mL ανά καλυπτρίδα (συνολικά 4 καλυπτρίδες) ή 2 mL ανά μπουκαλάκι.
- Επώαστε τις καλλιέργειες αδιατάρακτες σε ατμόσφαιρα 5% CO<sub>2</sub> στους 37 °C.
- Γέμισε τις καλλιέργειες τη 2η ημέρα, προσθέτοντας 2 mL CHANG Medium C.
- Μετά από 4 έως 5 ημέρες, οι καλλιέργειες θα πρέπει να ελέγχονται για την ανάπτυξή 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 C. Συνιστάται η παροχή θρεπτικού υλικού στις καλλιέργειες κάθε 2 ημέρες από αυτό το σημείο και έπειτα.
- Ελέγξτε την ανάπτυξη των καλλιεργιών την 5η ημέρα, ή μετά από αυτήν, και συλλέξτε όταν παρατηρηθούν επαρκείς αποικίες.
- Τα καλύτερα αποτελέσματα λαμβάνονται όταν οι καλλιέργειες τρέφονται με CHANG Medium C την ημέρα πριν από τη συλλογή.

#### Χρήση του CHANG Medium C για πρωτογενείς καλλιέργειες: Μεθοδολογίες με μπουκαλάκια

- Φυγοκεντρίστε το αμνιακό υγρό σε χαμηλή ταχύτητα, για συμπύκνωση των κυττάρων.
- 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 C για συνολικό όγκο 5 mL ανά μπουκαλάκι.
- Επώαστε τις καλλιέργειες αδιατάρακτες σε ατμόσφαιρα 5% CO<sub>2</sub> στους 37 °C.
- Ελέγξτε την ανάπτυξη την ημέρα 5. Αλλάζετε το μέσο με φρέσκο CHANG Medium C και συλλέξτε εάν παρατηρηθεί επαρκής κυτταρική ανάπτυξη.
- Ελέγξτε την ανάπτυξη των καλλιεργιών και αλλάζετε πλήρως το μέσο μέρα παρά μέρα, έως ότου παρατηρηθούν επαρκείς αποικίες και είναι έτοιμες για συλλογή.
- Τα καλύτερα αποτελέσματα λαμβάνονται όταν οι καλλιέργειες τρέφονται με CHANG Medium C την ημέρα πριν από τη συλλογή.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Για κλειστά συστήματα, ξεπλύνετε κάθε μπουκαλάκι καλλιέργειας με 5% CO<sub>2</sub> - 95% αέρα για 20 δευτερόλεπτα. Σφίξτε τα πώματα στα μπουκαλάκια καλλιέργειας και επώαστε τα στους 37 °C. (Συνιστάται να συνδέεται μια αποστειρωμένη πιπέτα Παστέρ με βύσμα στην πηγή CO<sub>2</sub> για να διασφαλίζεται η στεριότητα του εισερχόμενου αερίου).

#### Χρήση του CHANG Medium C 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 C 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.

#### ΦΥΛΑΞΗ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ

Φυλάσσετε το κατεψυγμένο συμπλήρωμα CHANG Medium C κάτω από τους -10 °C, το λυοφιλοποιημένο συμπλήρωμα CHANG Medium C στους 2 °C έως 8 °C, το CHANG Medium B Basal στους 2 °C έως 8 °C και το πλήρες CHANG Medium C στους 2 °C έως 8 °C. Το CHANG Medium B Basal δεν πρέπει να καταψύχεται. Προστατέψτε το από φθορίζον φως.

Δείτε τις ξεχωριστές ετικέτες των φιαλών των συστατικών για συγκεκριμένες ημερομηνίες λήξης. Το πλήρες CHANG Medium C μπορεί να φυλαχτεί στους 2 °C έως 8 °C για 10 ημέρες πριν τη χρήση, χωρίς να επηρεαστεί η λειτουργία του. Δεν συνιστάται η φύλαξη για διάστημα μεγαλύτερο των 10 ημερών.

ΜΗΝ ΚΑΤΑΨΥΧΕΤΕ ΤΟ ΠΛΗΡΕΣ CHANG MEDIUM C.

#### 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 τα συστατικά του CHANG Medium C μετά την παρέλευση της ημερομηνίας λήξης που υποδεικνύεται στις επιμέρους ετικέτες.

## INDIKACE PRO POUŽITÍ

CHANG Medium C 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 MEDIUM JE URČENO K POUŽITÍ V OTEVŘENÝCH (KULTURY EKUILIBROVÁNY S ATMOSFÉROU S 5 % CO<sub>2</sub>) I UZAVŘENÝCH KULTIVAČNÍCH SYSTÉMECH (KULTURY ZAPLAVENY 5 % CO<sub>2</sub> A INKUBOVÁNY V PEVNĚ UZAVŘENÝCH KULTIVAČNÍCH NÁDOBÁCH).

## POPIS PROSTŘEDKU

CHANG Medium C bylo vyvinuto k primokultivaci lidských buněk z plodové vody pro účely karyotypizace a jiných antenatálních genetických testů. SLOŽENÍ BYLO OPTIMALIZOVÁNO PRO OTEVŘENÉ I UZAVŘENÉ SYSTÉMY.

## SLOŽKY

<u>Soli a ionty</u>	<u>Proteiny, hormony</u>	<u>Indikátor pH</u>
Chlorid sodný	<u>a růstové faktory</u>	Fenolová červec
Seleničitan sodný	Fetální bovinní sérum (FBS)	<u>Vitaminy</u>
Chlorid vápenatý	Novorozenecké bovinní sérum	<u>a stopové prvky</u>
Cholinchlorid	Lidský transferin	Kyselina askorbová
Chlorid draselný	Fibroblastový růstový faktor (FGF)	Kyselina listová
Fosforečnan draselný	Inzulín	Nikotinamid
Chlorid hořečnatý	Progesteron	Riboflavin
Síran hořečnatý	Testosteron	Thiamin
Fosforečnan sodný	Beta-estradiol	Kyselina pantothenová
Síran železnatý	Hydrokortison	Kobalamin
Síran měďnatý	<u>Voda</u>	Pyridoxal
Síran zinečnatý	V kvalitě vody pro injekci	Pyridoxin
<u>Pufr</u>	<u>Ostatní</u>	
Hydrogenuhlíčenat sodný	Hypoxantin	
<u>Aminokyseliny</u>	Biotin	
Alanin	Putrescin	
Arginin	Ethylalkohol	
Asparagin	<u>Antioxidant</u>	
Kyselina asparagová	Kyselina thioktová	
Cystein	<u>Nukleové kyseliny</u>	
Cystin	Deoxyadenosin	
Kyselina glutamová	Deoxycytidin	
Glutamin	Deoxyguanosin	
Glycin	Adenosin	
Histidin	Cytidin	
Isoleucin	Guanosin	
Leucin	Thymidin	
Lysin	Uridin	
Methionin	<u>Energetické</u>	
Fenylalanin	<u>substráty</u>	
Prolin	Glukóza	
Serin	Pyruvát	
Threonin	Inositol	
Tryptofan		
Tyrosin		
Valin		

## ZAJIŠTĚNÍ KVALITY

### STERILITA

Sérum používané k výrobě doplňku CHANG Medium C bylo testováno na přítomnost virové kontaminace podle předpisů CFR hlava 9 část 113.53. Byl také proveden screening na kontaminaci mykoplasmaty. Jak CHANG Medium B Basal, tak doplněk CHANG Medium C jsou sterilizovány filtrací o jemnosti 0,1 mikronu. Reprezentativní vzorky CHANG Medium B Basal a doplňku CHANG Medium C jsou testovány na možnou bakteriální kontaminaci podle protokolu testování sterility popsaného v aktuálně používaném testu na kontrolu sterility podle lékopisu USA <71>.

## PŘÍPRAVA K POUŽITÍ

### Lyofilizovaný doplněk

1. Nechte lyofilizovaný doplněk CHANG Medium C vytemperovat na pokojovou teplotu.
2. Aseptickým postupem přidejte k lyofilizátu 10 ml nebo 50 ml sterilní destilované vody. 10ml lahvička je pro 90ml CHANG Medium B Basal; 50ml lahvička je pro 450ml CHANG Medium B Basal.
3. Šetrným kroužením lahvičkou zajistíte kompletní rozpuštění. (POZNÁMKA: Pro úplné rozpuštění doplňku může být nutné lahvičku na 5 až 10 minut inkubovat při teplotě 37 °C.)

4. Asepticky přenešte celý objem rekonstituovaného doplňku CHANG Medium C do lahve s CHANG Medium B Basal.
5. Kompletní médium CHANG Medium C dobře promíchejte kroužením lahvi.
6. Přidejte L-glutamin, 10,0 ml/l (200 mM). Podle potřeby lze přidat antibiotika.

### Zmrazený doplněk

1. Zmrazený doplněk CHANG Medium C rychle rozmrazte kroužením lahvičkou ve vodní lázni o teplotě 37 °C.
2. Asepticky přenešte celý objem rozmrazeného doplňku CHANG Medium C do lahve s CHANG Medium B Basal.
3. Kompletní médium CHANG Medium C dobře promíchejte kroužením lahvi.
4. Přidejte L-glutamin, 10,0 ml/l (200 mM). Podle potřeby lze přidat antibiotika.

## ROZDĚLENÍ DOPLŇKU CHANG MEDIUM C Lyofilizovaný doplněk

Pokud nebudete moci celý objem CHANG Medium C spotřebovat do 10 dnů, můžete ho rozdělit na menší díly touto modifikací postupu:

1. Rekonstruuje lyofilizovaný doplněk CHANG Medium C.
2. Asepticky rozdělte na díly o příhodném objemu a zmrazte.
3. Rovněž asepticky rozdělte CHANG Medium B Basal na odpovídající počet dílů.
4. Kompletní médium CHANG Medium C připravte přidáním jednoho dílu rozmrazeného doplňku CHANG Medium C do jednoho dílu CHANG Medium B Basal.
5. Důkladně promíchejte.

### Zmrazený doplněk

1. Rozmrazte zmrazený doplněk CHANG Medium C.
2. Asepticky rozdělte na díly o příhodném objemu a znovu zmrazte. (POZNÁMKA: Lahvička doplňku obsahuje 14 ml nebo 70 ml. Rozdělte rovnoměrně.)
3. Rovněž asepticky rozdělte CHANG Medium B Basal na odpovídající počet dílů.
4. Kompletní médium CHANG Medium C připravte přidáním jednoho dílu rozmrazeného doplňku CHANG Medium C do jednoho dílu CHANG Medium B Basal.
5. Důkladně promíchejte.

## NÁVOD K POUŽITÍ

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 vložením média s mírně uvolněným uzávěrem do inkubátoru s atmosférou 5 % – 8 % CO<sub>2</sub>. Konečné pH musí být 6,8–7,2.

Další informace o použití těchto výrobků každá laboratoř získá ve vlastních laboratorních metodách a protokolech vypracovaných a optimalizovaných specificky pro její konkrétní zdravotnický program.

## Použití média CHANG Medium C

### 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 C, 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 a v atmosféře s 5 % CO<sub>2</sub>.
4. 2. den kultury zaplave přidáním 2 ml CHANG Medium C.
5. Po 4 až 5 dnech zkontrolujte růst kultur. Jakmile začne růst, je třeba dodat živiny. Živiny dodejte tak, že odstraníte veškerý supernatant kultury a nahradíte ho 2 ml čerstvého CHANG Medium C. Poté doporučujeme kulturám doplňovat živiny každé 2 dny.

6. 5. den nebo po něm kontrolujte růst kultur a když zjistíte dostatečné kolonie, proveďte sběr.
7. Optimálních výsledků se dosahuje, pokud jsou kultury vyživeny médiem CHANG Medium C den před sběrem.

## Použití média CHANG Medium C 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 C; celkový objem na kultivační lahev bude 5 ml.
3. Inkubujte kultury nerušeně při teplotě 37 °C a v atmosféře s 5 % CO<sub>2</sub>.
4. 5. den zkontrolujte růst. Nahraďte médium čerstvým médiem CHANG Medium C a, pokud zjistíte dostatečný růst buněk, proveďte sběr.
5. Následně kontrolujte růst kultur a provádějte úplné výměny média každý druhý den, dokud nezjistíte dostatečné kolonie a nejste připraveni ke sběru.
6. Optimálních výsledků se dosahuje, pokud jsou kultury vyživeny médiem CHANG Medium C den před sběrem.

POZNÁMKA: U uzavřených systémů každou kultivační lahev profoukněte po dobu 20 sekund směsí 5 % CO<sub>2</sub> a 95 % vzduchu. Utáhněte uzávěry inkubačních lahví a inkubujte je při teplotě 37 °C. (K zaručení sterility přiváděného plynu se doporučuje ke zdroji CO<sub>2</sub> připojit sterilní zazátkovanou Pasteurovu pipetu.)

## Použití média CHANG Medium C 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 C 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.

## UCHOVÁVÁNÍ A STABILITA

Uchovávejte zmrazený doplněk CHANG Medium C při teplotě nižší než -10 °C, lyofilizovaný doplněk CHANG Medium C při teplotě 2 °C až 8 °C, CHANG Medium B Basal při teplotě 2 °C až 8 °C a kompletní médium CHANG Medium C při teplotě 2 °C až 8 °C. CHANG Medium B Basal chraňte před mrazem.

Chraňte před fluorescenčním světlem.

Specifická data expirace naleznete na štítcích lahví jednotlivých složek. Kompletní médium CHANG Medium C lze uchovávat při teplotě 2 °C až 8 °C po dobu 10 dní před použitím, aniž by tím byly dotčeny jeho vlastnosti. Skladování po dobu delší než 10 dní se nedoporučuje.

CHRAŇTE KOMPLETNÍ MEDIUM CHANG MEDIUM C PŘED MRAZEM.

## BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ A VAROVÁNÍ

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

Složky média CHANG Medium C nepoužívejte po uplynutí dat expirace vyznačených na jednotlivých štítcích.



**INDIKATIONER FOR ANVENDELSE**

CHANG Medium C kan anvendes til følgende applikationer:

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

DETTE MEDIUM ER FREMSTILLET TIL BRUG I BÅDE ÅBNE (KULTURER DER ER TILPASSET EN ATMOSFÆRE PÅ 5 % CO<sub>2</sub>) OG LUKKEDE DYRKNINGSSYSTEMER (KULTURER TILSAT 5 % CO<sub>2</sub> OG INKUBERET MED TÆT LUKKET LÅG PÅ DYRKNINGSKARRENE).

**BESKRIVELSE AF PRODUKTET**

CHANG Medium C blev udviklet til primær dyrkning af humane amnionvæskeceller til karyotypebestemmelse og anden antenatal genetisk testning. DENNE FORMULERING ER OPTIMERET TIL BÅDE ÅBNE OG LUKKEDE SYSTEMER.

**KOMPONENTER**

<u>Salte og ioner</u>	<u>Proteiner, hormoner og vækstfaktorer</u>	<u>pH-indikator</u>
Natriumklorid	Føtalt bovint serum (FBS)	Rød fenol
Natriumselenit	Serum fra nyfødt kalv	<u>Vitaminer og sporelementer</u>
Kalciumklorid	Human transferrin	Ascorbinsyre
Kolinklorid	Fibroblastvækstfaktor (FGF)	Folinsyre
Kaliumklorid	Insulin	Nicotinamid
Kaliumfosfat	Progesteron	Riboflavin
Magnesiumklorid	Testosteron	Thiamin
Magnesiumsulfat	Beta-østradiol	Pantothensyre
Natriumfosfat	Hydrokortison	Cobalamin
Jernsulfat	<u>Vand</u>	Pyridoxal
Cuprisulfat	Af kvalitet til injektionsvæske	
Zinksulfat	<u>Andet</u>	
<u>Buffer</u>	Hypoxanthin	
Natriumbikarbonat	Biotin	
<u>Aminosyrer</u>	Putrescin	
Alanin	Ætylalkohol	
Arginin	<u>Antioxidant</u>	
Asparagin	Thioctsyre	
Asparaginsyre	<u>Nukleinsyrer</u>	
Cystein	Deoxyadenosin	
Cystin	Deoxycytidin	
Glutaminsyre	Deoxyguanosin	
Glutamin	Adenosin	
Glycin	Cytidin	
Histidin	Guanosin	
Isoleucin	Thymidin	
Leucin	Uridin	
Lysin	<u>Energisubstrater</u>	
Methionin	Glukose	
Phenylalanin	Pyruvat	
Prolin	Inositol	
Serin		
Threonin		
Tryptofan		
Tyrosin		
Valin		

**KVALITETSSIKRING****STERILITET**

Serum, der er anvendt i produktionen af CHANG Medium C-supplement, er testet for viral kontamination ifølge CFR Title 9 Part 113.53. Det er også screenet for mykoplasmakontaminering. Både CHANG Medium B Basal og CHANG Medium C-supplement er steriliseret ved filtrering gennem et filter på 0,1 mikron. Repræsentative prøver af CHANG Medium B Basal og CHANG Medium C supplement er blevet testet for bakteriologisk kontamination ifølge protokollen for sterilitetstestning som beskrevet i den aktuelle USP-sterilitetstest <71>.

**KLARGØRING****Lyofiliseret supplement**

1. Lad CHANG Medium C lyofiliseret supplement ækvilibrere til stuetemperatur.
2. Brug aseptisk teknik, og tilsæt 10 ml eller 50 ml steril, destilleret vand til lyofilisatet. 10 ml flasken er til 90 ml CHANG Medium B Basal, og 50 ml flasken er til 450 ml CHANG Medium B Basal.
3. Hvirvl flasken forsigtigt, så indholdet opløses helt. (BEMÆRK: Det kan være nødvendigt at inkubere flasken ved 37 °C i 5-10 minutter for at opløse supplementet helt).
4. Overfør aseptisk hele indholdet af det rekonstituerede CHANG Medium C-supplement til flasken med

CHANG Medium B Basal.

5. Bland complete CHANG Medium C godt ved at hvirvle flasken.
6. Tilsæt L-glutamin, 10,0 ml/l (200 mM). Der kan eventuelt tilsættes antibiotika.

**Frossent supplement**

1. Optø hurtigt CHANG Medium C frossent supplement ved at hvirvle flasken i et 37 °C vandbad.
2. Overfør aseptisk hele indholdet af det optøede CHANG Medium C-supplement til flasken med CHANG Medium B Basal.
3. Bland complete CHANG Medium C godt ved at hvirvle flasken.
4. Tilsæt L-glutamin, 10,0 ml/l (200 mM). Der kan eventuelt tilsættes antibiotika.

**AFMÅLING AF CHANG MEDIUM C-SUPPLEMENT****Lyofiliseret supplement**

Hvis complete CHANG Medium C ikke kan anvendes inden for 10 dage, kan det afmåles i mindre mængder ved hjælp af denne ændring i proceduren:

1. Rekonstituer CHANG Medium C lyofiliseret supplement.
2. Fordel mediet aseptisk i mængder af passende størrelse, og nedfrys dem.
3. Dispenser også aseptisk CHANG Medium B Basal i et tilsvarende antal mængder.
4. Complete CHANG Medium C klargøres ved at tilsætte én afmålt mængde optøet CHANG Medium C-supplement til én afmålt mængde CHANG Medium B Basal.
5. Bland godt.

**Frossent supplement**

1. Optø CHANG Medium C frossent supplement.
2. Fordel mediet aseptisk i mængder af passende størrelse, og nedfrys dem igen. (BEMÆRK: Flaskerne med supplement indeholder 14 ml eller 70 ml. Fordel ligeligt).
3. Dispenser også aseptisk CHANG Medium B Basal i et tilsvarende antal mængder.
4. Complete CHANG Medium C klargøres ved at tilsætte én afmålt mængde optøet CHANG Medium C-supplement til én afmålt mængde CHANG Medium B Basal.
5. Bland godt.

**BRUGSANVISNING**

pH-VÆRDEN 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 % CO<sub>2</sub> med låget løst.

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

For yderligere oplysninger om brug af disse produkter skal hvert laboratorium følge sine egne procedurer og protokoller, som er blevet specifikt udviklet og optimeret til laboratoriets eget medicinske program.

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

1. Centrifuger amnionvæsken ved lav hastighed for at koncentrere cellerne.
2. Resuspender cellepelleten i en lille volumen af patientens egen amnionvæske. Aspirer f.eks. supernatanten fra 10 ml centrifugeret amnionvæske til 0,5 ml over cellepelleten, og resuspender. Tilsæt nok CHANG Medium C til den koncentrerede celleduspension til at få en endelig udsåningsvolumen på 0,5 ml pr. dækglas (i alt 4 dækglas) eller 2 ml pr. ampul.
3. Inkuber kulturerne uforstyrret ved 37 °C i en atmosfære med 5 % CO<sub>2</sub>.
4. Skyl kulturerne på dag 2 ved at tilsætte 2 ml CHANG Medium C.
5. Efter 4-5 dage skal kulturerens 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 C. Det anbefales, at kulturerne næres hver anden dag herefter.
6. Kontroller kulturerens vækst på/eller efter dag 5, og høst, når der observeres nok kolonier.
7. De bedste resultater opnås, hvis kulturerne forsynes

med CHANG Medium C dagen inden høsten.

**Anvendelse af CHANG Medium C til primære kulturer: Metodologi med kolbe**

1. Centrifuger amnionvæsken ved lav hastighed for at koncentrere cellerne.
2. Resuspender cellepelleten i en lille volumen af patientens egen amnionvæske. Aspirer f.eks. supernatanten fra 10 ml centrifugeret amnionvæske til 1 ml over cellepelleten, og resuspender. Tilsæt 4 ml CHANG Medium C, så den totale volumen er 5 ml pr. kolbe.
3. Inkuber kulturerne uforstyrret ved 37 °C i en atmosfære med 5 % CO<sub>2</sub>.
4. Kontroller væksten på dag 5. Udskift mediet med friskt CHANG Medium C, og høst, hvis der observeres tilstrækkelig cellelevækst.
5. Kontroller kulturerens vækst, og udskift mediet fuldstændigt hver anden 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 C dagen inden høsten.

BEMÆRK: Skyl i lukkede systemer hver dyrkningskolbe med 5 % CO<sub>2</sub> – 95 % luft i 20 sekunder. Luk låget tæt til på dyrkningskolberne, og inkuber ved 37 °C. (Det anbefales at slutte en steril Pasteurpipette med hætte til CO<sub>2</sub>-kilden for at sikre, at den indgående gas er steril).

**Anvendelse af CHANG Medium C 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 C, 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.

**OPBEVARING OG STABILITET**

Opbevar CHANG Medium C frossent supplement ved under -10 °C, CHANG Medium C lyofiliseret supplement ved 2-8 °C, CHANG Medium B Basal ved 2-8 °C og complete CHANG Medium C ved 2-8 °C. CHANG Medium B Basal må ikke nedfryses.

Beskyttes mod fluorescerende lys.

Se udløbsdatoen på den enkelte flaskes etiket. Complete CHANG Medium C kan opbevares ved 2-8 °C i 10 dage inden brug uden at miste sin virkning. Opbevaring længere end 10 dage frarådes.

COMPLETE CHANG MEDIUM C MÅ IKKE NEDFRYSES.

**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.

Anvend ikke CHANG Medium C efter den udløbsdato, der er angivet på de enkelte etiketter.

## SUOMI

### KÄYTTÖAIHE

CHANG Medium C -elatusainetta voidaan käyttää seuraaviin tarkoituksiin:

1. lapsivesisolujen primaariviljely
2. siirrostettujen lapsivesisolujen kasvattaminen
3. luuydinsolujen viljely
4. kiintää amnionkalvokudos istukkabiopsiasta.

TÄMÄ ELATUSAINE ON SUUNNITELTU KÄYTETTÄVÄKSI SEKÄ AVOIMISSA JÄRJESTELMISSÄ (VILJELMÄT, JOTKA ON TASAPAINOTETTU 5-PROSENTTISEEN CO<sub>2</sub>-ILMAKEHÄÄN) ETTÄ SULJETUISSA JÄRJESTELMISSÄ (VILJELMÄT, JOTKA ON TÄYTETTY 5-PROSENTTISELLÄ CO<sub>2</sub>-LLA JA JOITA INKUBOIDAAN VILJELYASTIAT TIUKASTI KORKILLA SULJETTUINA).

### VÄLINEEN KUVAUS

CHANG Medium C kehitettiin ihmisen lapsivesisolujen primaariviljelyyn karyotyypin määrittämistä ja muita syntymää edeltäviä geneettisiä testejä varten. TÄMÄ KOOSTUMUS ON OPTIMOITU SEKÄ AVOIMIA ETTÄ SULJETTUJA JÄRJESTELMIÄ VARTEN.

### AINESOSAT

Suolat ja ionit	Proteiinit, hormonit ja kasvutekijät	pH-indikaattori
natriumkloridi	naudan sikion seerumi (FBS)	fenolipuna
natriumseleniitti	vastasyntyneen naudan seerumi	Vitamiinit ja hivenaineet
kalsiumkloridi	ihmisen transferrini	askorbiinihappo
koliinikloridi	fibroblastikasvutekijä (FGF)	foolihappo
kaliumpufofaatti	insulini	nikotiiniamidi
magnesiumkloridi	progesteroni	riboflaviini
magnesiumsulfaatti	testosteroni	tiamiini
natriumpufofaatti	beetaestradioli	pantoteinihappo
ferrosulfaatti	hydrokortisoni	kobalamiini
kuparisulfaatti	<u>Vesj</u>	pyridoksaali
sinkkisulfaatti	injektionesteisiin tarkoitettun veden laatuinen	pyridoksiini
<u>Puskuri</u>	<u>Muut</u>	
natriumbikarbonaatti	hypoksantiini	
<u>Aminohapot</u>	biotiini	
alaniini	putreskiini	
arginiini	etanoli	
asparagiini	<u>Antioksidantti</u>	
asparagiinihappo	tioktiinihappo	
kysteini	<u>Nukleiinihapot</u>	
kystiini	deoksiadenosiini	
glutamiinihappo	deoksisytidiini	
glutamiini	deoksiguanosiini	
glysiini	adenosiini	
histidiini	sytidini	
isoleusiini	guanosiini	
leusiini	tymidiini	
lysiini	uridiini	
metioniini	<u>Energiasubstraatti</u>	
fenyylialaniini	glukoosi	
proliini	pyruvaatti	
seriini	inositoli	
treoniini		
tryptofaani		
tyrosiini		
valiini		

### LAADUNVARMENNUS

#### STERIILISYYS

CHANG Medium C Supplement -tuotteen valmistuksessa käytettävä seerumi on testattu viruskontaminaation varalta CFR-säännöksen osan 9 pykälän 113.53 mukaisesti. Se on seulottu myös mykoplasmakontaminaation varalta. Sekä CHANG Medium B Basal että CHANG Medium C Supplement on steriloitu suodattamalla 0,1 mikronin suodattimen läpi. CHANG Medium B Basal- ja CHANG Medium C Supplement -tuotteiden edustavat näytteet testataan mahdollisen bakteerikontaminaation varalta noudattaen nykyisessä USP-steriiliystestissä <71> kuvattua steriilitestausmenettelyä.

#### KÄYTÖN VALMISTELU

##### Kylmäkuivattu Supplement-tuote

1. Anna kylmäkuivatun CHANG Medium C Supplement -tuotteen tasapainottua huoneenlämpöön.
2. Lisää aseptista menettelyä käyttäen 10 ml tai 50 ml steriiliä tislattua vettä kylmäkuivattuun aineeseen. 10 ml:n pullo on tarkoitettu 90 ml:aan CHANG Medium B Basal -tuotetta ja 50 ml:n pullo on tarkoitettu 450 ml:aan CHANG Medium B Basal -tuotetta.

3. Pyöritä pulloa varovasti täydellisen liukenemisen saavuttamiseksi. (HUOMAUTUS: Ravintolisän liuottamiseksi kokonaan voidaan tarvita pullon inkuboimista 37 °C:ssa 5–10 minuutin ajan.)
4. Siirrä aseptista menettelyä käyttäen nesteeseen liuotetun CHANG Medium C Supplement -tuotteen koko sisältö CHANG Medium B Basal -pulloon.
5. Sekoita hyvin koko CHANG Medium C -pullon sisältö pulloa pyörittämällä.
6. Lisää L-glutamiinia 10,0 ml/l (200 mM). Haluttaessa voidaan lisätä antibiootteja.

##### Pakastettu Supplement-tuote

1. Sulata pakastettu CHANG Medium C Supplement -tuote nopeasti, 37 °C:n vesihauhteessa pulloa pyörittäen.
2. Siirrä aseptista menettelyä käyttäen sulatetun CHANG Medium C Supplement -tuotteen koko sisältö CHANG Medium B Basal -pulloon.
3. Sekoita hyvin koko CHANG Medium C -pullon sisältö pulloa pyörittämällä.
4. Lisää L-glutamiinia 10,0 ml/l (200 mM). Haluttaessa voidaan lisätä antibiootteja.

### CHANG MEDIUM C SUPPLEMENT

#### -LIUKSEN JAKAMINEN ERIIN

##### Kylmäkuivattu Supplement-tuote

Jos käyttövalmista CHANG Medium C -elatusainetta ei voida käyttää 10 päivän sisällä, voidaan haluttaessa valmistella pienempiä määriä noudattamalla seuraavaa menetelmän muunnosta:

1. Liuota kylmäkuivattu CHANG Medium C Supplement -tuote nesteeseen.
2. Jaa aseptista menettelyä käyttäen kätevästi eriin ja pakasta ne.
3. Jaa myös CHANG Medium B Basal aseptista menettelyä käyttäen vastaavaan määrään eriä.
4. Valmistaa koko valmis CHANG Medium C lisäämällä yksi erä sulatettua CHANG Medium C Supplement -tuotetta yhteen erään CHANG Medium B Basal -liuosta.
5. Sekoita hyvin.

##### Pakastettu Supplement-tuote

1. Sulata pakastettu CHANG Medium C Supplement -tuote.
2. Jaa aseptista menettelyä käyttäen kätevän kokoihin eriin ja pakasta uudelleen. (HUOMAUTUS: Ravintolisäpullo sisältää 14 ml tai 70 ml tuotetta. Jaa tasaeriin.)
3. Jaa myös CHANG Medium B Basal aseptista menettelyä käyttäen vastaavaan määrään eriä.
4. Valmistaa koko valmis CHANG Medium C lisäämällä yksi erä sulatettua CHANG Medium C Supplement -tuotetta yhteen erään CHANG Medium B Basal -liuosta.
5. Sekoita hyvin.

#### KÄYTTÖOHJEET

VILJELMIEN RAVITSEMISEEN KÄYTETTÄVÄN LIUKSEN pH-ARVON 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 CO<sub>2</sub>-lämpökaappiin korkki hieman löysällä.

Lopullisen pH-arvon on oltava 6,8–7,2. Kunkin laboratorion tulee katsoa lisäohjeet näiden tuotteiden käyttöä varten omista laboratoriokäytäntö- ja protokollaohjeistaan, jotka on kehitetty ja optimoitu nimenomaan laboratorion omaa terveydenhuolto-ohjelmaa varten.

#### CHANG Medium C -liuksen käyttäminen primaariviljelmiin: in situ -menetelmät

1. Konsentroi solut sentrifugoimalla lapsivettä pienellä nopeudella.
2. Suspendoi solusakka pieneen määrään potilaan omaa lapsivettä. Jos esimerkiksi 10 ml:n lapsivesinäyte sentrifugoidaan, aspiroi supernatanttia pois niin, että solusakan yläpuolelle jää 0,5 ml, ja suspendoi näyte uudelleen. Lisää riittävästi CHANG Medium C -liuosta konsentroitua solususpensioon, niin että lopullinen maljaustilavuus on 0,5 ml / peitinlasi (yhteensä 4 peitinlasi) tai 2 ml / pieni viljelypullo.

3. Inkuboi viljelmiä ilman häiriöitä 37 °C:ssa 5-prosenttisessa CO<sub>2</sub>-ilmakehässä.
4. Lisää viljelmiin 2 ml CHANG Medium C -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 C -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 C -liuksella keräämistä edeltävänä päivänä.

#### CHANG Medium C -liuksen käyttäminen primaariviljelmiin: pullomenetelmät

1. Konsentroi solut sentrifugoimalla lapsivettä pienellä nopeudella.
2. Suspendoi solusakka pieneen määrään potilaan omaa lapsivettä. Jos esimerkiksi 10 ml:n lapsivesinäyte sentrifugoidaan, aspiroi supernatanttia pois niin, että solusakan yläpuolelle jää 1,0 ml, ja suspendoi näyte uudelleen. Lisää 4 ml CHANG Medium C -liuosta lopulliseen maljaustilavuuteen 5 ml / viljelypullo.
3. Inkuboi viljelmiä ilman häiriöitä 37 °C:ssa 5-prosenttisessa CO<sub>2</sub>-ilmakehässä.
4. Tarkista kasvu päivänä 5. Vaihda elatusaine tuoreeseen CHANG Medium C -liukseen ja kerää solut, jos havaitaan riittävästi solukasvu.
5. Tarkista viljelmien kasvu ja vaihda elatusaine kokonaan uuteen sen jälkeen joka toinen päivä, kunnes havaitaan riittävästi pesäkkeitä ja ne ovat valmiita kerättäviksi.
6. Parhaat tulokset saadaan, kun viljelmiä ravitaan CHANG Medium C -liuksella keräämistä edeltävänä päivänä.

HUOMAUTUS: Suljetuissa järjestelmissä jokaista viljelypulloa on huuhdeltava 20 sekunnin ajan seoksella 5 % CO<sub>2</sub> – 95 % ilmaa. Kiristä viljelypullojen korkit kiinni ja inkuboi pulloja 37 °C:ssa. (On suositeltavaa, että CO<sub>2</sub>-lähteeseen kiinnitetään steriili, pumpulitukolla varustettu pasteuripipetti saapuvan kaasun steriililyden varmistamiseksi.)

#### CHANG Medium C -liuksen käyttäminen siirrostettujen lapsivesisolujen kasvattamiseen:

Siirrosta solut käsittelemällä viljelmät trypsiinillä (tai pronaasilla jne.) kuten normaalistikin, kun soluja kasvatetaan perinteisessä elatusaineessa. Proteaasikäsittelyä on kuitenkin valvottava huolella. CHANG Medium C -liuksessa kasvatetut lapsivesisolut ovat herkempiä proteaasikäsittelylle kuin perinteisessä elatusaineessa kasvatetut lapsivesisolut. Kasvatusmenetelmää on ehkä muutettava tämän huomioon ottamiseksi.

#### SÄILYTÄMINEN JA STABIILISYYS

Säilytä pakastettua CHANG Medium C Supplement -liuosta alle -10 °C:ssa, kylmäkuivattua CHANG Medium C Supplement -tuotetta 2–8 °C:ssa, CHANG Medium B Basal -liuosta 2–8 °C:ssa ja käyttövalmista CHANG Medium C -elatusainetta 2–8 °C:ssa. CHANG Medium B Basal -tuotetta ei saa pakastaa. Suojaa loistevalaisimen valolta.

Katso täsmälliset viimeiset käyttöpäivät yksittäisten osien pulloetiketeistä. Käyttövalmista CHANG Medium C -elatusainetta voidaan säilyttää 2–8 °C:ssa 10 päivän ajan ennen käyttöä sen toimintaan vaikuttamatta. Yli 10 päivän säilytysaikaa ei suositella. KÄYTTÖVALMISTA CHANG MEDIUM C -ELATUSAINETTA EI SAA PAKASTAA.

#### VAROITUKSET JA VAROITUKSET

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

Älä käytä CHANG Medium C -elatusaineen osia yksittäisissä etiketeissä osoitetun viimeisen käyttöpäivän jälkeen.

## LATVISKI

### LIETOŠANAS INDIKĀCIJA

„CHANG Medium C” (Čanga barotni C) var lietot tālāk norādītajos gadījumos.

1. Augļa ūdens šūnu primārā kultivēšana.
2. Pārsētu augļa ūdens šūnu audzēšana.
3. Kaulu smadzeņu šūnu kultivēšana.
4. Kompaktajiem amnija audiem, kas iegūti horija bārktīņu parauga izmeklēšanā.

ŠĪ BAROTNE IR PAREDZĒTA IZMANTOŠANAI GAN VAĻĒJĀS (KULTŪRAS LĪDZSVARO 5 % CO<sub>2</sub> VIDĒ), GAN SLĒGTĀS KULTIVĒŠANAS SISTĒMĀS (KULTŪRAS UZPLUDINA AR 5 % CO<sub>2</sub> UN, CIEŠI AR AIZBĀZNI NOSLĒDZOT KULTŪRU TRAUKUS, INKUBĒ).

### IERĪCES APRAKSTS

„CHANG Medium C” izstrādāja cilvēka augļa ūdens šūnu primārajai kultivēšanai, lai veiktu kariotipu noteikšanas un citus antenatālos ģenētiskos testus. ŠIS SASTĀVS IR OPTIMIZĒTS IZMANTOŠANAI GAN VAĻĒJĀS, GAN SLĒGTĀS SISTĒMĀS.

### SASTĀVDAĻAS

<u>Sāļi un joni</u>	<u>Proteīni, hormoni un augšanas faktori</u>	<u>Enerģijas substrāti</u>
Nātrija hlorīds	Liellopu embriju serums ( <i>fetal bovine serum – FBS</i> )	Glikoze
Kalcija hlorīds	Liellopu embriju serums ( <i>fetal bovine serum – FBS</i> )	Piruvāts
Holīna hlorīds	Liellopu jaundzimušo teļu serums	Inozitols
Kālija hlorīds	Cilvēka transferīns	pH indikators
Kālija fosfāts	Fibroblastu augšanas faktors ( <i>fibroblast growth factor – FGF</i> )	Fenolsarkanais
Magnija hlorīds	Insulīns	Vitamīni un mikroelementi
Magnija sulfāts	Progesterons	Askorbīnskābe
Nātrija fosfāts	Testosterons	Folijskābe
Dzelzs sulfāts	Bēta estradiols	Nikotinamīds
Vara sulfāts	Hidrokortizons	Riboflavīns
Cinka sulfāts	Ūdens	Tiamīns
Bufērskāidums	Injekciju ūdens (WFI) kvalitāte	Pantotēnskābe
Nātrija bikarbonāts	Citas	Kobalamīns
Aminoskābes	Hipoksantīns	Piridoksāls
Alanīns	Glutamīnskābe	Piridoksīns
Arginīns	Glutamīns	
Asparagīns	Glicīns	
Asparagīnskābe	Histidīns	
	Izoleicīns	
	Leicīns	
	Lizīns	
	Metionīns	
	Fenilalanīns	
	Profīns	
	Serīns	
	Treonīns	
	Triptofāns	
	Tirozīns	
	Valīns	
	Uridīns	

### KVALITĀTES NODROŠINĀŠANA

#### STERILITĀTE

„CHANG Medium C” piedevas 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 pārbaudīts arī, lai noteiktu piesārņojumu ar mikoplazmu. Gan pamata „CHANG Medium B”, gan „CHANG Medium C” piedeva ir sterilizēta, filtrējot caur 0,1 mikrona filtru. Atsevišķi pamata „CHANG Medium B” un „CHANG Medium C” piedevas paraugi pārbaudīti, lai noteiktu iespējamo bakteriālo piesārņojumu, atbilstoši sterilitātes testēšanas protokolam, kas aprakstīts pašreizējā ASV Farmakopejas (*USP*) sterilitātes testā <71>.

### SAGATAVOŠANA LIETOŠANAI

#### Liofilizētā piedeva

1. Ļaujiet „CHANG Medium C” liofilizētajai piedevai līdzsvaroties līdz istabas temperatūrai.
2. Aseptiskā veidā liofilizētām pievienojiet 10 ml vai 50 ml sterila destilēta ūdens. 10 ml flakons paredzēts 90 ml pamata „CHANG Medium B”; 50 ml flakons paredzēts 450 ml pamata „CHANG Medium B”.

3. Uzmanīgi virpiniet flakonu, lai panāktu pilnīgu izšķīšanu. (PIEZĪME: lai piedevu pilnībā izšķīdinātu, flakonu var būt nepieciešams inkubēt 5–10 minūtes 37 °C temperatūrā).
4. Aseptiskā veidā visu sagatavotās „CHANG Medium C” piedevas saturu pārnēsiet uz pamata „CHANG Medium B” pudeli.
5. Labi samaisiet pilnīgo „CHANG Medium C”, virpinot pudeli.
6. Pievienojiet 10,0 ml/l (200 mM) L-glutamīna. Ja vēlams, var pievienot antibiotikas.

#### Saldētā piedeva

1. Ātri atkausējiet „CHANG Medium C” saldēto piedevu, flakonu virpinot 37 °C ūdens vannā.
2. Aseptiskā veidā visu atkausētās „CHANG Medium C” piedevas saturu pārnēsiet uz pamata „CHANG Medium B” pudeli.
3. Labi samaisiet pilnīgo „CHANG Medium C”, virpinot pudeli.
4. Pievienojiet 10,0 ml/l (200 mM) L-glutamīna. Ja vēlams, var pievienot antibiotikas.

### „CHANG MEDIUM C” PIEDEVAS DALĪŠANA ALIKVOTAJĀS DAĻĀS

#### Liofilizētā piedeva

Ja pilnīgo „CHANG Medium C” nevarēsiet izmantot 10 dienās, iespējams, vēlēšities sagatavot mazāku daudzumu, rīkojoties saskaņā ar šo pārveidoto procedūru.

1. Sagatavojiet „CHANG Medium C” liofilizēto piedevu.
2. Aseptiskā veidā sadaliet piemērota lieluma alikvotajās daļās un sasaldējiet.
3. Aseptiskā veidā arī pamata „CHANG Medium B” sadaliet attiecīga skaita alikvotajās daļās.
4. Lai sagatavotu pilnīgo „CHANG Medium C”, vienu alikvoto daļu atkausētas „CHANG Medium C” piedevas pievienojiet vienai alikvotajai daļai pamata „CHANG Medium B”.
5. Labi samaisiet.

#### Saldētā piedeva

1. Atkausējiet „CHANG Medium C” saldēto piedevu.
2. Aseptiskā veidā sadaliet piemērota lieluma alikvotajās daļās un atkārtoti sasaldējiet. (PIEZĪME: flakons satur 14 ml vai 70 ml piedevas. Sadaliet vienādās daļās.)
3. Aseptiskā veidā arī pamata „CHANG Medium B” sadaliet attiecīga skaita alikvotajās daļās.
4. Lai sagatavotu pilnīgo „CHANG Medium C”, vienu alikvoto daļu atkausētas „CHANG Medium C” piedevas pievienojiet vienai alikvotajai daļai pamata „CHANG Medium B”.
5. Labi samaisiet.

### LIETOŠANAS NORĀDĪJUMI

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 vaiļīgāk uzliktu aizbāzni ievietojot 5–8 % CO<sub>2</sub> inkubatorā.

Galīgajam pH līmenim jābūt 6,8–7,2.

Papildu informācija par šo produktu lietošanu meklējama katras laboratorijas procedūru aprakstos un protokolos, kas īpaši izstrādāti un optimizēti individuālajai medicīniskajai programmai.

### „CHANG MEDIUM C” 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 centrifugāta līdz 0,5 ml virs šūnu lodītes un atkārtoti suspendējiet. Koncentrētajai šūnu suspensijai pievienojiet pietiekamu daudzumu „CHANG Medium C”, lai iegūtu galīgo uzsēšanas daudzumu – 0,5 ml uz katru segstikliņu (pavisam 4 segstikliņi) vai 2 ml uz flakonu.
3. Netraucēti inkubējiet kultūras 37 °C temperatūrā 5 % CO<sub>2</sub> vidē.
4. 2. dienā uzpludiniet kultūras, pievienojot 2 ml „CHANG Medium C”.

5. Pēc 4–5 dienām jāpārbauda kultūru augšana. Tiklīdz novēro augšanu, kultūras jāpapildina. Papildiniet kultūras, noņemot visu kultūras supernatantu un aizvietojot to ar 2 ml svaigas „CHANG Medium C”. 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 C” vienu dienu pirms ievākšanas.

### „CHANG Medium C” 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 centrifugāta līdz 1 ml virs šūnu lodītes un atkārtoti suspendējiet. Pievienojiet 4 ml „CHANG Medium C”, lai kopējais daudzums katrā flakonā būtu 5 ml.
3. Netraucēti inkubējiet kultūras 37 °C temperatūrā 5 % CO<sub>2</sub> vidē.
4. 5. dienā pārbaudiet augšanu. Barotni aizstājiet ar svaigu „CHANG Medium C” un, ja novēro pietiekamu šūnu augšanu, ievāciet tās.
5. Pēc tam katru otro 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 C” vienu dienu pirms ievākšanas.

PIEZĪME: slēgtās sistēmās katru kultūras flakonu 20 sekundes skalojiet ar 5 % CO<sub>2</sub> un 95 % gaisa maisījumu. Kultūras flakoniem cieši uzlieciet aizbāžņus un inkubējiet 37 °C temperatūrā. (CO<sub>2</sub> avotam ieteicams piestiprināt sterilu Pastēra pipeti ar aizbāzni, lai nodrošinātu iekļūstošās gāzes sterilitāti.)

### „CHANG Medium C” izmantošana pārsētu augļa ūdens šūnu audzēšanai

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

### GLABĀŠANA UN STABILITĀTE

„CHANG Medium C” saldēto piedevu glabāt par –10 °C zemākā temperatūrā, „CHANG Medium C” liofilizēto piedevu glabāt 2–8 °C temperatūrā, pamata „CHANG Medium B” glabāt 2–8 °C temperatūrā, un pilnīgo „CHANG Medium C” glabāt 2–8 °C temperatūrā. Pamata „CHANG Medium B” nedrīkst sasaldēt.

Aizsargājiet no fluorescējošas gaismas.

Attiecīgos derīguma termiņus skatīt atsevišķo sastāvdaļu pudeļu etiķetēs. Pilnīgo „CHANG Medium C” līdz lietošanai drīkst glabāt 2–8 °C temperatūrā 10 dienas, neietekmējot tās funkciju. Glabāt ilgāk par 10 dienām nav ieteicams.

NESASALDĒT PILNĪGO „CHANG MEDIUM C”.

### PIESARDZĪBAS PASĀKUMI UN BRĪDINĀJUMI

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

„CHANG Medium C” sastāvdaļas nelietot pēc derīguma termiņa, kas norādīts to etiķetēs.



## INDICATIE VOOR GEBRUIK

CHANG Medium C 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 chorionvillusbioopsie.
- DIT MEDIUM IS BEDOELD VOOR GEBRUIK IN ZOWEL OPEN (KWEKEN DIE ZIJN GEËQUILIBREERD MET EEN 5% CO<sub>2</sub>-ATMOSFEER) ALS GESLOTEN KWEKSYSTEMEN (KWEKEN DIE VOLLEDIG BEDEKT ZIJN MET 5% CO<sub>2</sub> EN GEÏNCUBEERD IN GOED AFGESLOTEN KWEKFLIESTEN).

## BESCHRIJVING VAN HET HULPMIDDEL

CHANG Medium C is ontwikkeld voor de primaire kweek van menselijke vruchtwatercellen voor gebruik bij karyotypering en ander prenataal genetisch onderzoek. DEZE FORMULE IS GEOPTIMALISEERD VOOR ZOWEL OPEN ALS GESLOTEN SYSTEMEN.

### COMPONENTEN

<u>Zouten en ionen</u>	<u>Eiwitten, hormonen en groeifactoren</u>	<u>pH-indicator</u>
Natriumchloride	Foetaal	Fenolrood
Natriumseleniet	runderserum (FBS)	<u>Vitaminen en spoorelementen</u>
Calciumchloride	Pasgeboren	Ascorbinezuur
Cholinechloride	kalfserum	Foliumzuur
Kaliumchloride	Menselijk	Nicotinamide
Kaliumfosfaat	transferrine	Riboflavine
Magnesiumchloride	Fibroblast	Thiamine
Magnesiumsulfaat	groeifactor (FGF)	Pantotheenzuur
Natriumfosfaat	Insuline	Cobalamine
Ferrosulfaat	Progesteron	Pyridoxaal
Cuprisulfaat	Testosteron	Pyridoxine
Zinksulfaat	Bèta-oestradiol	
<u>Buffer</u>	Hydrocortison	
Natriumbicarbonaat	<u>Water</u>	
<u>Aminozuren</u>	Farmaceutisch	
Alanine	kwaliiteitswater	
Arginine	(WFI)	
Asparagine	<u>Overige</u>	
Asparaginezuur	Hypoxanthine	
Cysteïne	Biotine	
Cystine	Putrescine	
Glutaminezuur	Ethylalcohol	
Glutamine	<u>Antioxidant</u>	
Glycine	Alfa-liponzuur	
Histidine	<u>Nucleïnezuren</u>	
Isoleucine	Deoxyadenosine	
Leucine	Deoxycytidine	
Lysine	Deoxyguanosine	
Methionine	Adenosine	
Fenylalanine	Cytidine	
Proline	Guanosine	
Serine	Thymidine	
Treonine	Uridine	
Tryptofaan	<u>Energiesubstraten</u>	
Tyrosine	Glucose	
Valine	Pyruvaat	
	Inositol	

## KWALITEITSBORING

### STERILITEIT

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

### VOORBEREIDING OP HET GEBRUIK

#### Gelyofiliseerd supplement

1. Laat CHANG Medium C gelyofiliseerd supplement op kamertemperatuur komen.
2. Voeg op aseptische wijze 10 ml of 50 ml steriel gedestilleerd water aan het lyofilaat toe. De 10ml-flacon is voor 90 ml CHANG Medium B Basal en de 50ml-flacon is voor 450 ml CHANG Medium B Basal.
3. Draai de flacon voorzichtig rond om het supplement volledig op te lossen. (NB: Incubeer de flacon zo nodig gedurende 5 tot 10 minuten bij 37 °C om al het supplement op te lossen.)

4. Breng de gehele inhoud van het gereconstitueerde CHANG Medium C Supplement op aseptische wijze over naar de fles met CHANG Medium B Basal.
5. Meng het complete CHANG Medium C goed door de fles rond te draaien.
6. Voeg L-glutamine toe, 10,0 ml/l (200 mM). Voeg desgewenst antibiotica toe.

#### Bevroren supplement

1. Ontdooi CHANG Medium C bevroren supplement snel door de flacon in een waterbad van 37 °C rond te draaien.
2. Breng de gehele inhoud van het ontdoode CHANG Medium C Supplement op aseptische wijze over naar de fles met CHANG Medium B Basal.
3. Meng het complete CHANG Medium C goed door de fles rond te draaien.
4. Voeg L-glutamine toe, 10,0 ml/l (200 mM). Voeg desgewenst antibiotica toe.

### OPDELEN VAN CHANG MEDIUM C SUPPLEMENT

#### Gelyofiliseerd supplement

Als het complete CHANG Medium C niet binnen 10 dagen wordt gebruikt, kunt u kleine hoeveelheden prepareren volgens de onderstaande gewijzigde procedure:

1. Reconstitueer CHANG Medium C gelyofiliseerd supplement.
2. Verdeel dit op aseptische wijze in praktische hoeveelheden en vries deze in.
3. Verdeel tevens het CHANG Medium B Basal op aseptische wijze in een overeenkomstig aantal delen.
4. Prepareer het complete CHANG Medium C door één deel ontdooid CHANG Medium C Supplement toe te voegen aan één deel CHANG Medium B Basal.
5. Goed mengen.

#### Bevroren supplement

1. Ontdooi CHANG Medium C bevroren supplement.
2. Verdeel dit op aseptische wijze in praktische hoeveelheden en vries deze opnieuw in. (NB: De flacon bevat 14 ml of 70 ml supplement. Verdeel dit in gelijke delen.)
3. Verdeel tevens het CHANG Medium B Basal op aseptische wijze in een overeenkomstig aantal delen.
4. Prepareer het complete CHANG Medium C door één deel ontdooid CHANG Medium C Supplement toe te voegen aan één deel CHANG Medium B Basal.
5. Goed mengen.

### GEBRUIKSAANWIJZING

DE pH VAN HET MEDIUM DAT WORDT GEBRUIKT OM DE KWEK 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 in een 5%-8% CO<sub>2</sub>-incubator te plaatsen.

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

Voor aanvullende informatie over het gebruik van deze producten dienen alle laboratoria hun eigen laboratoriumprocedures en -protocollen te raadplegen die speciaal zijn ontwikkeld en geoptimaliseerd voor uw individueel medisch programma.

### Gebruik van CHANG Medium C 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 C 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% CO<sub>2</sub>-atmosfeer.
4. Bedek de kweken op dag 2 volledig door 2 ml CHANG Medium C 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 C. 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 C worden gevoed.

### Gebruik van CHANG Medium C 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 C toe tot een totaal volume van 5 ml per fles.
3. Zet de kweken ongestoord in de incubator bij 37 °C en 5% CO<sub>2</sub>-atmosfeer.
4. Controleer de groei op dag 5. Vervang het medium door vers CHANG Medium C en oogst als er voldoende celgroei is waargenomen.
5. Controleer daarna om de andere 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 C worden gevoed.

NB: Spoel bij gesloten systemen elke kweekfles gedurende 20 seconden met 5% CO<sub>2</sub> - 95% lucht. Draai de doppen op de kweekflessen vast en incubeer bij 37 °C. (Aanbevolen wordt een steriele afgesloten pasteuriserend CO<sub>2</sub>-bron aan te sluiten om de steriliteit van het instromende gas te garanderen.)

### Gebruik van CHANG Medium C voor het groeien van gepasseerde vruchtwatercellen:

Passeer de cellen door de kweken met trypsin (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 C 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.

### BEWAREN EN STABILITEIT

Bewaar CHANG Medium C bevroren supplement bij een temperatuur lager dan -10 °C, CHANG Medium C gelyofiliseerd supplement bij 2 °C tot 8 °C, CHANG Medium B Basal bij 2 °C tot 8 °C en het complete CHANG Medium C bij 2 °C tot 8 °C. CHANG Medium B Basal mag niet worden ingevroren.

Bescherm tegen fluorescentielicht.

Raadpleeg de etiketten op de flessen met individuele componenten voor specifieke houdbaarheidsdata's. Complete CHANG Medium C kan vóór gebruik gedurende 10 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 10 dagen te bewaren.

COMPLETE CHANG MEDIUM C NIET INVRIEZEN.

### VOORZORGSMAATREGELEN 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 de CHANG Medium C componenten niet na de houdbaarheidsdatum weergegeven op de individuele etiketten.

## POLSKI

### PRZEZNACZENIE

Pożywką CHANG Medium C może być używana do następujących zastosowań:

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
- TEŻ POŻYWKĘ ZAPROJEKTOWANO DO UŻYTKU W SYSTEMACH HODOWLI OTWARTYCH (HODOWLE DOPROWADZONE DO RÓWNOWAGI W ATMOSFERZE 5% CO<sub>2</sub>) I ZAMKNIĘTYCH (HODOWLE NAPEŁNIONE MIESZANINĄ Z 5% CO<sub>2</sub> I INKUBOWANE W SZCZELNIE ZAMKNIĘTYCH NACZYNIACH HODOWLANYCH).

### OPIS WYROBU

Pożywkę CHANG Medium C opracowano dla hodowli pierwotnej ludzkich komórek płynu owodniowego przeznaczonych do kariotypowania i wykonywania innych prenatalnych testów genetycznych. NINIEJSZY SKŁAD ZOPTYMALIZOWANO DLA SYSTEMÓW HODOWLI OTWARTYCH I ZAMKNIĘTYCH.

### SKŁADNIKI

<b>Sole i jony</b>	<b>Białka, hormony i czynniki wzrostu</b>	<b>Wskaźnik pH</b>
Chlorek sodu	Plodowa surowica	Czerwień fenolowa
Selenian sodu	bydłęca (FBS)	<b>Witaminy</b>
Chlorek wapnia	Surowica	<b>i pierwiastki śladowe</b>
Chlorek choliny	nowonarodzonych cieląt	Kwas askorbinowy
Chlorek potasu	Ludzka transferyna	Kwas foliowy
Fosforan potasu	Czynniki wzrostu fibroblastów (FGF)	Nikotynamid
Chlorek magnezu	Insulina	Ryboflawina
Siarczan magnezu	Progesteron	Tiamina
Fosforan sodu	Testosteron	Kwas pantotenowy
Siarczan żelaza	Beta-estradiol	Kobalamina
Siarczan miedzi	Hydrokortyzon	Pirydoksal
Siarczan cynku	Woda	Pirydoksyna
<b>Bufor</b>	<b>Woda o jakości WFI</b>	
Wodorowęglan sodu	<b>Inne</b>	
<b>Aminokwasy</b>	Hipoksantryna	
Alanina	Biotyna	
Arginina	Putrescyna	
Asparagina	Alkohol etylowy	
Kwas asparaginowy	<b>Antyoksydant</b>	
Cysteina	Kwas tioktanowy	
Cystyna	<b>Kwasy nukleinowe</b>	
Kwas glutaminowy	Deoksyadenozyna	
Glutamina	Deoksytydyna	
Glicyna	Deoksyguanozyna	
Histydyna	Adenozyna	
Izoleucyna	Cytydyna	
Leucyna	Guanozyna	
Lizyna	Tymidyna	
Metionina	Urydyna	
Fenylalanina	<b>Substraty energetyczne</b>	
Prolina	Glukoza	
Seryna	Pirogrolanin	
Treonina	Inozytol	
Tryptofan		
Tyrozyna		
Walina		

### ZAPEWNIANIE JAKOŚCI

#### STERYLNOŚĆ

Surowicę używaną do produkcji dodatku CHANG Medium C 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 podstawową CHANG Medium B Basal i dodatek CHANG Medium C sterylizowano poprzez filtrację przez filtr o średnicy porów 0,1 mikrona. Reprezentatywne próbki pożywki podstawowej CHANG Medium B Basal i dodatku CHANG Medium C są poddawane testom pod kątem możliwego zanieczyszczenia bakterierynego zgodnie z protokołem badania sterylności opisanym w najnowszym badaniu sterylności wg Farmakopei Amerykańskiej (USP) <71>.

#### PRZYKOTOWANIE DO UŻYCIA

##### Liofilizowany dodatek

1. Doprowadzić liofilizowany dodatek CHANG Medium C do temperatury pokojowej.
2. Stosując techniki aseptyczne, dodać 10 ml lub 50 ml sterylnej wody destylowanej do liofilizatu. Fiolka o pojemności 10 ml jest przeznaczona dla 90 ml pożywki podstawowej CHANG Medium B Basal; fiolka o pojemności 50 ml jest przeznaczona dla

450 ml pożywki podstawowej CHANG Medium B Basal.

3. Delikatnie obracać fiolkę ruchem wirowym, aby uzyskać kompletny roztwór. (UWAGA: W celu całkowitego rozpuszczenia dodatku może być konieczne inkubowanie fiołki w temperaturze 37°C przez 5–10 minut.
4. Aseptycznie przenieść całą zawartość zrekonstruowanego dodatku CHANG Medium C do butelki z pożywką podstawową CHANG Medium B Basal.
5. Dobrze wymieszać kompletną pożywkę CHANG Medium C, obracając butelkę ruchem wirowym.
6. Dodać L-glutaminę, 10,0 ml/l (200 mM). W razie potrzeby można dodać antybiotyki.

##### Zamrożony dodatek

1. Szybko rozmrozić zamrożony dodatek CHANG Medium C, obracając fiolkę ruchem wirowym w łaźni wodnej nastawionej na temperaturę 37°C.
2. Aseptycznie przenieść całą zawartość rozmrożonego dodatku CHANG Medium C do butelki z pożywką podstawową CHANG Medium B Basal.
3. Dobrze wymieszać kompletną pożywkę CHANG Medium C, obracając butelkę ruchem wirowym.
4. Dodać L-glutaminę, 10,0 ml/l (200 mM). W razie potrzeby można dodać antybiotyki.

#### ROZDZIELANIE DODATKU CHANG MEDIUM C NA PORCJE

##### Liofilizowany dodatek

Jeśli nie jest możliwe użycie całej kompletnej pożywki CHANG Medium C w ciągu 10 dni, można przygotować mniejszą ilość pożywki, modyfikując procedurę w poniższy sposób:

1. Zrekonstruować liofilizowany dodatek CHANG Medium C.
2. W sposób aseptyczny rozdzielić dodatek na porcje o odpowiednim rozmiarze, a następnie zamrozić.
3. W sposób aseptyczny rozdzielić również pożywkę podstawową CHANG Medium B Basal na odpowiednią liczbę porcji.
4. Aby przygotować kompletną pożywkę CHANG Medium C, dodać jedną porcję rozmrożonego dodatku CHANG Medium C do jednej porcji pożywki podstawowej CHANG Medium B Basal.

##### Zamrożony dodatek

1. Rozmrozić zamrożony dodatek CHANG Medium C.
2. W sposób aseptyczny rozdzielić dodatek na porcje o odpowiednim rozmiarze, a następnie zamrozić ponownie. (UWAGA: Fiolka z dodatkiem zawiera roztwór o objętości 14 ml lub 70 ml. Rozdzielić po równo).
3. W sposób aseptyczny rozdzielić również pożywkę podstawową CHANG Medium B Basal na odpowiednią liczbę porcji.
4. Aby przygotować kompletną pożywkę CHANG Medium C, dodać jedną porcję rozmrożonego dodatku CHANG Medium C do jednej porcji pożywki podstawowej CHANG Medium B Basal.

##### Dobrze wymieszać.

#### INSTRUKCJA UŻYCIA

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 zatyczką w inkubatorze z atmosferą 5%–8% CO<sub>2</sub>. Końcowa wartość pH musi wynosić 6,8–7,2.

Szczegółowe informacje o wykorzystaniu tych produktów należy zweryfikować w wewnętrznych procedurach oraz protokołach laboratorium, które opracowano i zoptymalizowano pod kątem poszczególnych programów medycznych.

#### Stosowanie pożywki CHANG Medium C 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 pacjenta. 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 C 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% CO<sub>2</sub>, nie zakłócając ich.
4. W dniu 2. zalać hodowlę, dodając 2 ml pożywki CHANG Medium C.
5. Po 4–5 dniach sprawdzić wzrost hodowli. Po zaobserwowaniu wzrostu należy zasilić hodowlę pożywką. Zasiłać hodowlę pożywką, usuwając cały nadsącz hodowli i zastępując go 2 ml świeżej pożywki CHANG Medium C. 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 C dzień przed zbiorem.

#### Stosowanie pożywki CHANG Medium C 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 pacjenta. 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 C do całkowitej objętości równej 5 ml na butelkę.
3. Inkubować hodowlę w temperaturze 37°C w atmosferze 5% CO<sub>2</sub>, nie zakłócając ich.
4. Sprawdzić wzrost hodowli w 5. dniu. Zmienić pożywkę na świeżą pożywkę CHANG Medium C i zebrać komórki, jeśli zaobserwowano wystarczający wzrost komórek.
5. Po wykonaniu tej czynności sprawdzać wzrost hodowli i co drugi dzień całkowicie wymieniać pożywkę do czasu zaobserwowania wystarczającej liczby kolonii gotowych do zbioru.
6. Najlepsze wyniki otrzymywano, gdy zasilano hodowlę pożywką CHANG Medium C dzień przed zbiorem.

UWAGA: W przypadku systemów hodowli zamkniętych płukać każdą butelkę hodowlaną mieszaniną o składzie 5% CO<sub>2</sub> i 95% powietrza przez 20 sekund. Zakręcić zakrętki butelek hodowlanych i inkubować butelki w temperaturze 37°C. (Aby zapewnić sterylność wchodzącego gazu, zalecane jest przyłączenie sterylnej pipety Pasteura do źródła CO<sub>2</sub>).

#### Stosowanie pożywki CHANG Medium C do wzrostu pasażowanych komórek płynu owodniowego:

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

#### PRZECHOWYWANIE I STABILNOŚĆ

Przechowywać zamrożony dodatek CHANG Medium C w temperaturze poniżej -10°C, liofilizowany dodatek CHANG Medium C w temperaturze od 2°C do 8°C, pożywkę podstawową CHANG Medium B Basal w temperaturze od 2°C do 8°C, a kompletną pożywkę CHANG Medium C w temperaturze od 2°C do 8°C. Nie należy zamrażać pożywki podstawowej CHANG Medium B Basal.

Chronić przed światłem fluorescencyjnym.

Terminy ważności określono na etykietach butelek poszczególnych składników. Pożywkę Complete CHANG Medium C można przechowywać w temperaturze od 2°C do 8°C przez 10 dni bez negatywnego wpływu na jej działanie. Przechowywanie pożywki przez okres dłuższy niż 10 dni nie jest zalecane.

#### NIE ZAMRAŻAĆ KOMPLETNEJ POŻYWKI CHANG MEDIUM C.

#### 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 używać składników pożywki CHANG Medium C po upływie terminu ważności podanego na poszczególnych etykietach.

**INDICAȚIE DE UTILIZARE**

CHANG Medium C se poate utiliza pentru următoarele întrebunțări:

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 vilii chorionice colectate.

ACEST MEDIU A FOST PROIECTAT PENTRU UTILIZARE ATĂT ÎN CULTURI DESCHISE (CULTURI ECHILIBRATE CU O ATMOSFERĂ DE CO<sub>2</sub> 5%), CÂT ȘI ÎN SISTEME DE CULTURI ÎNCHISE (CULTURI INUNDATE CU CO<sub>2</sub> 5% ȘI INCUBATE CU VASELE DE CULTURĂ ÎMBUTELIATE ERMETIC).

**DESCRIEREA DISPOZITIVULUI**

CHANG Medium C a fost realizat pentru cultura primară a celulelor din lichidul amniotic uman în vederea utilizării pentru cariotipare și alte teste genetice prenatale. ACEASTĂ FORMULĂ A FOST OPTIMIZATĂ ATĂT PENTRU SISTEME DESCHISE, CÂT ȘI PENTRU SISTEME ÎNCHISE.

**COMPONENTE**

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

**ASIGURAREA CALITĂȚII****STERILITATE**

Serul utilizat la producerea suplimentului CHANG Medium C 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. Atât CHANG Medium B Basal, cât și suplimentul CHANG Medium C sunt sterilizate prin filtrare printr-un filtru de 0,1 microni. Probe reprezentative de CHANG Medium B Basal și supliment CHANG Medium C 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****Supliment liofilizat**

1. Lăsați suplimentul liofilizat CHANG Medium C să se echilibreze la temperatura camerei.
2. Folosind tehnici aseptice, adăugați 10 ml sau 50 ml de apă distilată sterilă la liofilizat. Fiola de 10 ml este pentru 90 ml de CHANG Medium B Basal; fiola de 50 ml este pentru 450 ml CHANG Medium B Basal.

3. Agitați ușor fiola pentru a realiza dizolvarea completă. (NOTĂ: Poate fi necesară incubarea fiolei la 37°C timp de 5 până la 10 minute pentru dizolvarea completă a suplimentului).
4. Transferați aseptice în întregul conținut al suplimentului CHANG Medium C reconstituit în flaconul de CHANG Medium B Basal.
5. Amestecați bine CHANG Medium C complet prin agitarea flaconului.
6. Adăugați L-glutamină, 10,0 ml/l (200 mM). Dacă se dorește, se pot adăuga antibiotice.

**Supliment congelat**

1. Dezghețați rapid suplimentul CHANG Medium C congelat prin agitarea fiolei într-o baie de apă la 37°C.
2. Transferați aseptice în întregul conținut al suplimentului CHANG Medium C dezghețat în flaconul de CHANG Medium B Basal.
3. Amestecați bine CHANG Medium C complet prin agitarea flaconului.
4. Adăugați L-glutamină, 10,0 ml/l (200 mM). Dacă se dorește, se pot adăuga antibiotice.

**REPARTIZAREA SUPPLEMENTULUI CHANG MEDIUM C ÎN PĂRȚI ALICOTE****Supliment liofilizat**

Dacă nu puteți utiliza CHANG Medium C complet în termen de 10 zile, puteți să realizați cantități mai mici urmând pașii acestei modificări de procedură:

1. Reconstituiți suplimentul CHANG Medium C liofilizat.
2. Distribuți aseptice în părți alicote de mărime convenabilă și congelați.
3. De asemenea, distribuți CHANG Medium B Basal într-un număr corespunzător de părți alicote.
4. Pentru a prepara CHANG Medium C complet, adăugați o parte alicotă de supliment CHANG Medium C dezghețat la o parte alicotă de CHANG Medium B Basal.
5. Amestecați bine.

**Supliment congelat**

1. Dezghețați suplimentul CHANG Medium C congelat.
2. Distribuți aseptice în părți alicote de mărime convenabilă și recongelați. (NOTĂ: Fiola de supliment conține 14 ml sau 70 ml. Distribuți în mod egal.)
3. De asemenea, distribuți CHANG Medium B Basal într-un număr corespunzător de părți alicote.
4. Pentru a prepara CHANG Medium C complet, adăugați o parte alicotă de supliment CHANG Medium C dezghețat la o parte alicotă de CHANG Medium B Basal.
5. Amestecați bine.

**INSTRUCȚIUNI DE UTILIZARE**

pH-UL MEDIULUI UTILIZAT PENTRU HRĂNIREA CULTURILOR TREBUIE SĂ FIE CUPRINS ÎNTE 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% CO<sub>2</sub> cu capacul ușor slăbit.

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

Pentru detalii suplimentare privind folosirea acestor produse, fiecare laborator trebuie să își consulte propriile proceduri și protocoale de laborator, care au fost elaborate și optimizate special pentru programul dvs. medical individual.

**Utilizarea CHANG Medium C 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 C 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 CO<sub>2</sub> 5%.
4. Inundați culturile în ziua 2 prin adăugarea a 2 ml de CHANG Medium C.

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 C 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 C în ziua anterioară recoltării.

**Utilizarea CHANG Medium C 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 C la un volum total de 5 ml per flacon.
3. Incubați culturile fără a le agita la 37°C într-o atmosferă de CO<sub>2</sub> 5%.
4. Controlați dacă există creștere în ziua 5. Înlocuiți mediul cu CHANG Medium C 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 o dată la două zile 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 C în ziua anterioară recoltării.

NOTĂ: Pentru sisteme închise, clătiți fiecare flacon de cultură cu un amestec de 5% CO<sub>2</sub>-95% aer timp de 20 secunde. Strângeți capacele flacoanelor de cultură și incubați-le la 37°C. (Se recomandă atașarea unei pipete Pasteur sterile astupate la sursa de CO<sub>2</sub> pentru a se asigura sterilitatea gazului care intră.)

**Utilizarea CHANG Medium C 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 C 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.

**DEPOZITARE ȘI STABILITATE**

Depozitați suplimentul CHANG Medium C congelat la o temperatură sub -10°C, suplimentul CHANG Medium C liofilizat la o temperatură între 2°C și 8°C. CHANG Medium B Basal la o temperatură între 2°C și 8°C și CHANG Medium C complet la o temperatură între 2°C și 8°C. CHANG Medium B Basal nu trebuie congelat. Protejați de lumina fluorescentă.

A se vedea etichetele de pe flacoanele componentelor individuale pentru datele de expirare specifice. CHANG Medium C complet poate fi depozitat la o temperatură între 2°C și 8°C timp de 10 zile înainte de utilizare fără a-i fi afectată funcția. Nu se recomandă depozitarea mai mult de 10 zile.

A NU SE CONGELA CHANG MEDIUM C COMPLET.

**PRECAUȚII ȘI AVERTISMENTE**

Acest dispozitiv este conceput pentru a fi utilizat de către personal instruit în proceduri care includ întrebunțarea pentru care a fost conceput dispozitivul. Nu utilizați componentele CHANG Medium C după data de expirare indicată pe etichetele individuale.



**INDIKATIONER**

CHANG Medium C kan användas för följande tillämpningar:

1. primärodling av celler i amnionvätska
  2. odling av celler från amnionvätska från passage
  3. odling av benmärgsceller
  4. fast amnionvävnad från chorionvillbiopsi.
- DETTA MEDIUM HAR UTVECKLATS FÖR ANVÄNDNING I BÅDE ÖPPNA (ODLINGAR EKVILIBRERADE I EN 5 % CO<sub>2</sub>-ATMOSFÄR) OCH SLUTNA ODLINGSSYSTEM (ODLINGAR FLÖDADE MED 5 % CO<sub>2</sub> OCH INKUBERADE MED ODLINGS-KÄRLEN TÄTT FÖRSLUTNA).

**PRODUKTBESKRIVNING**

CHANG Medium C har utvecklats för primärodling av celler i human amnionvätska för karyotypbestämning och andra antenatala genetiska tester. DENNA NÄRINGSLÖSNING HAR OPTIMERATS FÖR BÅDE ÖPPNA OCH SLUTNA SYSTEM.

**KOMPONENTER**

<u>Salter och joner</u>	<u>Proteiner, hormoner</u>	<u>pH-indikator</u>
Natriumklorid	<u>Samt tillväxtfaktorer</u>	Fenolrött
Natriumselenit	Fetalt bovint serum	<u>Vitaminer och</u>
Kalciumklorid	(FBS)	<u>spårämnen</u>
Koliniklorid	Serum från nyfödda	Askorbinsyra
Kaliumklorid	kalvar	Folsyra
Kaliumfosfat	Humant transferrin	Nikotinamid
Magnesiumklorid	Fibroblasttillväxt-	Riboflavin
Magnesiumsulfat	faktor (FGF)	Tiamin
Natriumfosfat	Insulin	Pantotensyra
Ferrosulfat	Progesteron	Kobalamin
Kopparsulfat	Testosteron	Pyridoxal
Zinksulfat	Betaöstradiol	Pyridoxin
<u>Buffert</u>	Hydrokortison	
Natriumbikarbonat	<u>Vatten</u>	
<u>Aminosyror</u>	Vatten för injektion	
Alanin	(WFI)	
Arginin	<u>Övrigt</u>	
Asparagin	Hypoxantin	
Asparaginsyra	Biotin	
Cystein	Putrescin	
Cystin	Etylalkohol	
Glutaminsyra	<u>Antioxidant</u>	
Glutamin	Tioktinsyra	
Glycin	<u>Nukleinsyror</u>	
Histidin	Deoxiadenosin	
Isoleucin	Deoxicytidin	
Leucin	Deoxiguanosin	
Lysin	Adenosin	
Metionin	Cytidin	
Fenylalanin	Guanosin	
Prolin	Tymidin	
Serin	Uridin	
Treonin	<u>Energisubstrat</u>	
Tryptofan	Glukos	
Tyrosin	Pyruvat	
Valin	Inositol	

**KVALITETSSÄKRING****STERILITET**

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

**BEREDNING FÖR ANVÄNDNING****Frystorkat supplement**

1. Låt CHANG Medium C frystorkat supplement uppnå rumstemperatur.
2. Tillsätt 10 ml eller 50 ml steril destillerat vatten med aseptisk teknik till det frystorkade mediet. 10 ml-ampullen är avsedd för 90 ml CHANG Medium B Basal och 50 ml-ampullen är avsedd för 450 ml CHANG Medium B Basal.
3. Snurra ampullen försiktigt så att allt pulver löses upp fullständigt. (ANM: Man kan behöva inkubera ampullen vid 37 °C i 5–10 minuter för att lösa upp supplementet fullständigt).

4. Överför aseptiskt hela mängden rekonstituerat CHANG Medium C-supplement till flaskan med CHANG Medium B Basal.
5. Blanda det kompletta CHANG Medium C väl genom att snurra flaskan.
6. Tillsätt L-glutamin, 10,0 ml/l (200 mM). Antibiotika kan tillsättas om så önskas.

**Fryst supplement**

1. Tina upp CHANG Medium C fryst supplement snabbt genom att snurra ampullen i ett 37 °C vattenbad.
2. Överför aseptiskt hela mängden upptinat CHANG Medium C-supplement till flaskan med CHANG Medium B Basal.
3. Blanda det kompletta CHANG Medium C väl genom att snurra flaskan.
4. Tillsätt L-glutamin, 10,0 ml/l (200 mM). Antibiotika kan tillsättas om så önskas.

**ALIKVOTERING AV CHANG MEDIUM C-SUPPLEMENT****Frystorkat supplement**

Om hela CHANG Medium C inte kommer att kunna användas inom 10 dagar kan det vara lämpligt att dela upp det i mindre mängder, med hjälp av följande modifierade procedur:

1. Rekonstituera CHANG Medium C frystorkat supplement.
2. Fördela mediet aseptiskt i alikvoter av lämplig storlek och fryser ner dem.
3. Dela även aseptiskt upp CHANG Medium B Basal i motsvarande antal alikvoter.
4. För att bereda komplett CHANG Medium C, tillsätt en alikvot upptinat CHANG Medium C-supplement till en alikvot CHANG Medium B Basal.
5. Blanda väl.

**Fryst supplement**

1. Tina upp CHANG Medium C fryst supplement.
2. Fördela mediet aseptiskt i alikvoter av lämplig storlek och fryser ner dem på nytt. (ANM: Ampullen med supplement innehåller 14 ml eller 70 ml. Fördela jämnt.)
3. Dela även aseptiskt upp CHANG Medium B Basal i motsvarande antal alikvoter.
4. För att bereda komplett CHANG Medium C, tillsätt en alikvot upptinat CHANG Medium C-supplement till en alikvot CHANG Medium B Basal.
5. Blanda väl.

**BRUKSANVISNING**

pH I DET MEDIUM SOM ANVÄNDS SOM NÄRINGS-SUBSTRAT TILL KULTURERNA 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 % CO<sub>2</sub>-inkubator med locket något lossat. Det slutliga pH-värdet måste vara 6,8–7,2.

För ytterligare information om användning av dessa produkter bör varje laboratorium konsultera sina egna laboratorieförfaranden och -protokoll som utvecklats och optimerats särskilt för det egna medicinska programmet.

**Användning av CHANG Medium C för primärkultur: In situ-metoder**

1. Centrifugera amnionväskan på låg hastighet för att koncentrera cellerna.
2. 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 C till den koncentrerade cellsuspensionen för att möjliggöra en slutlig plattvolym på 0,5 ml per täckglas (totalt 4 täckglas), eller 2 ml per flaska.
3. Inkubera kulturerna, utan att störa dem, vid 37 °C i 5 % CO<sub>2</sub>-atmosfär.
4. Flöda kulturerna på dag 2 genom att tillsätta 2 ml CHANG Medium C.
5. Efter 4–5 dagar bör kulturerna kontrolleras med avseende på växt. Näring bör tillföras till kulturerna så snart växt har observerats. Tillför näring till kulturerna genom att avlägsna all supernatant från kulturen och ersätta den med 2 ml färskt CHANG Medium C. Det rekommenderas att därefter tillföra näring till kulturerna varannan dag.

6. Kontrollera kulturerna med avseende på växt på/ efter dag 5 och skörda dem när tillräckligt många kolonier observeras.
7. Bästa resultat erhålls när kulturerna tillförs näring med CHANG Medium C dagen innan de skördas.

**Användning av CHANG Medium C för primärkultur: Metoder med flaska**

1. Centrifugera amnionväskan på låg hastighet för att koncentrera cellerna.
2. 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 C till en total volym på 5 ml per flaska.
3. Inkubera kulturerna, utan att störa dem, vid 37 °C i 5 % CO<sub>2</sub>-atmosfär.
4. Kontrollera kulturerna med avseende på växt på dag 5. Byt ut mediet mot färskt CHANG Medium C och skörda om tillräcklig cellväxt observeras.
5. Kontrollera kulturerna med avseende på växt och byt därefter helt ut mediet varannan dag tills tillräckligt med kolonier observeras och är klara att skördas.
6. Bästa resultat erhålls när kulturerna tillförs näring med CHANG Medium C dagen innan de skördas.

ANM: För slutna system, flusha varje odlingsflaska med 5 % CO<sub>2</sub> – 95 % luft i 20 sekunder. Dra åt locken på odlingsflaskorna och inkubera dem vid 37 °C. (Det rekommenderas att en steril, pluggad pasteurpipett ansluts till CO<sub>2</sub>-källan för att säkerställa den inkommande gasens sterilitet).

**Användning av CHANG Medium C för odling av celler från amnionvätska från passage:**

För passage av cellerna, behandla kulturerna 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 C tenderar att vara känsligare för proteasbehandling än celler från amnionvätska som odlas i konventionellt medium. Ett protokoll kan behöva modifieras för att ta hänsyn till detta.

**FÖRVARING OCH HÅLLBARHET**

Förvara CHANG Medium C fryst supplement vid en temperatur på under –10 °C, CHANG Medium C frystorkat supplement vid 2–8 °C, CHANG Medium B Basal vid 2–8 °C samt komplett CHANG Medium C vid 2–8 °C. CHANG Medium B Basal får inte frysas. Skyddas mot fluorescerande ljus.

Se etiketterna på flaskorna med de individuella komponenterna för specifika utgångsdatum. Kompletta CHANG Medium C kan förvaras vid 2–8 °C i 10 dagar före användning utan att dess funktion påverkas. Förvaring under längre tid än 10 dagar rekommenderas ej.

KOMPLETT CHANG MEDIUM C FÅR INTE FRYSAS.

**FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER OCH****VARNINGAR**

Denna produkt är avsedd att användas av personal med utbildning i procedurer som omfattar den indicerade tillämpning för vilken produkten är avsedd. Använd inte CHANG Medium C-komponenter efter de utgångsdatum som anges på de individuella etiketterna.

**NÄIDUSTUS KASUTAMISEKS**

Toodet CHANG Medium C võib kasutada järgmistel eesmärkidel.

1. Lootevedeliku rakkude primaarne kultuurimine
  2. Tõstetud lootevedeliku rakkude kasvatamine
  3. Luuüdi rakkude kultuurimine
  4. Tahke lootekude koorioni hattude proovist
- SEE SÖÖDE ON LOODUD KASUTAMISEKS NII AVATUD (5% CO<sub>2</sub> KESKKONNAS TASAKAALUSTATUD) KUI KA SULATÄTUD KULTUURIMISSÜSTEEMIDES (5% CO<sub>2</sub> ÜLE LOPUTATUD KULTUURID, MIDA INKUBEERITAKSE TIHEDALT KORGISTATUD KULTUURIANUMATES).

**SEADME KIRJELDUS**

CHANG Medium C töötati välja inimese lootevedeliku rakkude primaarseks kultuurimiseks karüotüüpimise ja muude sünnieelsete geneetiliste testide tegemise eesmärgil. KOOSTIS ON OPTIMEERITUD NII AVATUD KUI KA SULETUD SÜSTEEMIDE JAOKS.

**OSAD**

<u>Soolad ja ioonid</u>	<u>Valgud, hormoonid ja kasvufaktorid</u>	<u>pH-indikaator</u>
Naatriumkloriid	Veiseloote päritolu seerum (FBS)	Fenoolpunane
Naatriumseleniit	Vastsündinud veise päritolu seerum	<u>Vitamiinid ja mikroelemendid</u>
Kaltsiumkloriid	Insimese transferrin	Askorbiinhape
Koliinkloriid	Fibroplastide kasvufaktor (FGF)	Foolhape
Kaaliumkloriid	Insulini	Nikotiinamiid
Kaaliumfosfaat	Progesteron	Riboflaviin
Magneesiumkloriid	Testosteron	Tiamiin
Magneesiumsulfaat	Beeta-östradiool	Pantoteenhape
Naatriumfosfaat	Hüdrokortisoon	Kobalamiin
Raudsulfaat	<u>Vesi</u>	Püridoksaal
Vaskulfaat	WFI kvaliteet	Püridoksiin
Tsinkulfaat	<u>Muu</u>	
<u>Puhver</u>	Hüpopoksantiin	
Naatrium- vesinikkarbonaat	Biotiin	
<u>Aminohapped</u>	Putrestsiin	
Alaniin	Etüülalkohol	
Arginiin	<u>Antioksidant</u>	
Asparagiin	Lipoehape	
Asparagiinhape	<u>Nukleiinhapped</u>	
Tüsteiin	Deoksüadenosiin	
Tsüstiin	Deoksütsüidiin	
Glutamiinhape	Adenosiin	
Glutamiin	Tsütiidiin	
Glütsiin	Guanosiin	
Histidiin	Tümiidiin	
Isoleutsiin	Uridiin	
Leutsiin	<u>Energia substraadid</u>	
Lüsiin	Glükoos	
Metioniin	Püruvaat	
Fenüülalaniin	Inositol	
Proliin		
Seriin		
Treoniin		
Trüptofaan		
Türosiin		
Valiin		

**KVALITEEDI TAGAMINE**

**STERIILSUS**

CHANG Medium C lisandi tootmisel kasutatav seerum on testitud viiralse saaste suhtes CFR ptk 9 osa 113.53 kohaselt. Samuti on seda testitud mükoplasma suhtes. Nii CHANG Medium B Basal kui ka CHANG Medium C lisand on steriliseeritud filtreerimise teel läbi 0,1-mikronise filtri. Toodete CHANG Medium B Basali ja CHANG Medium C lisandi esinduslikke proove on bakterioloogilise saaste suhtes testitud steriilsuse katseprotokoll järgi, mida on kirjeldatud kehtivas USP steriilsustestis <71>.

**ETTEVALMISTUSED KASUTAMISEKS**

**Lüofiliseeritud lisand**

1. Laske CHANG Medium C lüofiliseeritud lisandil toatemperatuuril jõuda.
2. Lisage lüofilisaadile aseptilist tehnikat kasutades 10 ml või 50 ml steriilset destilleeritud vett. 10 ml vialal on 90 ml CHANG Medium B Basali jaoks; 50 ml vialal on 450 ml CHANG Medium B Basali jaoks.
3. Keerutage vialali õrnalt, et saada täielik lahus. (MÄRKUS. Võimalik, et vialali on vaja inkubeerida 37 °C 5–10 minutit, et lisandit täielikult lahustada).
4. Viige aseptilist tehnikat kasutades kogu manustamiskõblikuks muudetud CHANG Medium C lisand üle CHANG Medium B Basali pudelisse.
5. Segage CHANG Medium C korralikult läbi pudeli

keerutamise teel.

6. Lisage L-glutamiini, 10,0 ml/l (200 mM). Vajaduse korral võib lisada antibiootikume.

**Külmutatud lisand**

1. Sulatage CHANG Medium C külmutatud lisand kiirelt, keerutades vialali 37 °C veevannis.
2. Viige aseptilist tehnikat kasutades kogu sulatatud CHANG Medium C lisand üle CHANG Medium B Basali pudelisse.
3. Segage CHANG Medium C korralikult läbi pudeli keerutamise teel.
4. Lisage L-glutamiini, 10,0 ml/l (200 mM). Vajaduse korral võib lisada antibiootikume.

**CHANG MEDIUM C LISANDI ALIKVOOTIMINE**

**Lüofiliseeritud lisand**

Kui teil ei õnnestu täielikku CHANG Medium C-d 10 päeva jooksul ära kasutada, võite valmistada väiksemad kogused, järgides järgmist modifitseerimis- protseduuri.

1. Muutke manustamiskõblikuks CHANG Medium C lüofiliseeritud lisand.
2. Jaotage aseptiliselt sobiva suurusega alikvootideks ja külmutage.
3. Aseptilist tehnikat kasutades jaotage vastavasse arvu alikvootidesse ka CHANG Medium B Basal.
4. Täieliku CHANG Medium C valmistamiseks lisage üks alikvoot sulatatud CHANG Medium C lisandit ühele alikvoodile CHANG Medium B Basalile.
5. Segage hästi läbi.

**Külmutatud lisand**

1. Sulatage CHANG Medium C külmutatud lisand.
2. Jaotage aseptiliselt sobiva suurusega alikvootideks ja külmutage uuesti. (MÄRKUS. Lisandi vialal sisaldab 14 ml või 70 ml. Jaotage võrdseks.)
3. Aseptilist tehnikat kasutades jaotage vastavasse arvu alikvootidesse ka CHANG Medium B Basal.
4. Täieliku CHANG Medium C valmistamiseks lisage üks alikvoot sulatatud CHANG Medium C lisandit ühele alikvoodile CHANG Medium B Basalile.
5. Segage hästi läbi.

**KASUTUSJUHE**

KULTUURIDE TOITMISEKS KASUTATAVA SÖÖTME PH PEAB OLEMA 6,8–7,2 (st sööde peab olema kergelt kollakasroosa). pH-d on lihtne reguleerida, asetades söötme 5–8% CO<sub>2</sub> inkubaatorisse, kork veidi lahti. pH lõppnäit peab olema 6,8–7,2.

Lisateabe saamiseks nende toodete kasutamise kohta peavad laborid tutvuma oma protseduuride ja protokollidega, mis on välja töötatud ja optimeeritud spetsiaalselt nende individuaalse meditsiiniprogrammi jaoks.

**Toote CHANG Medium C kasutamine**

**primaarkultuuride puhul: in situ**

**metodoloogiad**

1. Tsentrifuugige lootevedelikku väiksel kiirusel, et rakke kontsentreerida.
2. Resuspendeerige rakupellet väheses patsiendi enda lootevees. Näiteks võite aspireerida 10 ml tsentrifuugitud lootevedeliku supernatanti 0,5 ml võrra rakupelleti kohale ja resuspendeerida. Lisage kontsentreeritud rakususpensioonile piisavalt toodet CHANG Medium C, et igale slaidile oleks võimalik kanda 0,5 ml (kokku 4 slaidi) või 2 ml rakukasvatuspudeli kohta.
3. Inkubeerige kultuure segamatult temperatuuril 37 °C 5% CO<sub>2</sub> keskkonnas.
4. 2. päeval katke kultuurid üle 2 ml tootega CHANG Medium C.
5. 4–5 päeva järel tuleb kontrollida kultuuride kasvu. Kasvu tuvastamisel tuleb kultuure toita. Toitke kultuure, eemaldades kogu kultuuri supernatandi ja asendades selle 2 ml värske CHANG Medium C-ga. Seejärel on soovitatav kultuure toita iga 2 päeva järel.
6. Kontrollige kultuuride kasvu 5. päeval või pärast seda ning koguge, kui tuvastate piisavad kolooniad.
7. Parimad tulemused saavutatakse kultuuride toitmisel tootega CHANG Medium C üks päev enne kogumist.

**Toote CHANG Medium C kasutamine**

**primaarkultuuride puhul: rakupudeli metodoloogiad**

1. Tsentrifuugige lootevedelikku väiksel kiirusel, et rakke kontsentreerida.
2. Resuspendeerige rakupellet väheses patsiendi enda lootevees. Näiteks võite aspireerida 10 ml tsentrifuugitud lootevedeliku supernatanti 1 ml võrra rakupelleti kohale ja resuspendeerida. Lisage 4 ml CHANG Medium C-d 5 ml pudeli kogumahu kohta.
3. Inkubeerige kultuure segamatult temperatuuril 37 °C 5% CO<sub>2</sub> keskkonnas.
4. 5. päeval kontrollige kasvu. Vahetage sööde värske CHANG Medium C vastu ja koguge, kui tuvastate piisava rakukasvu.
5. Kontrollige kultuure kasvu suhtes ja vahetage seejärel sööde ülepäeviti täielikult välja, kuni tuvastate piisavad kolooniad, mis on kogumiseks valmis.
6. Parimad tulemused saavutatakse kultuuride toitmisel tootega CHANG Medium C üks päev enne kogumist.

MÄRKUS. Suletud süsteemides loputage igat kultuuripudelit 5% CO<sub>2</sub> – 95% õhuga 20 sekundit. Keerake kultuuripudelite kork kinni ja inkubeerige 37 °C. (CO<sub>2</sub> allika külge on soovitatav kinnitada steriilne Pasteuri pipett, et tagada sissetuleva gaasi steriilsus.)

**Toote CHANG Medium C kasutamine**

**tõstetud lootevedeliku rakkude kasvatamiseks:**

Rakkude tõstmiseks töödelge kultuure trüpsiiniga (või pronaasiga vms) nagu tavapärasel rakkude kasvatamisel tavalises söötmes. Proteaasiga töötlemist tuleb hoolikalt jälgida. CHANG Medium C-s kasvatatud lootevedeliku rakud kipuvad olema proteaasitöötuse suhtes tundlikumad kui tavapärasel söötmes kasvatatud lootevedeliku rakud. Sellega arvestamiseks tuleb võimalikult muuta protokollid.

**SÄILITAMINE JA STABIILSUS**

Hoidke CHANG Medium C külmutatud lisandit temperatuuril alla –10 °C, CHANG Medium C lüofiliseeritud lisandit 2–8 °C, CHANG Medium B Basalit 2–8 °C ja täielikku CHANG Medium C-d 2–8 °C. Toodet CHANG Medium B Basal ei tohi külmutada.

Kaitske fluorestantsvalguse eest.

Aegumiskuupäeva vaadake komponendipudelite etiketidelt. Täielikku CHANG Medium C-d võib säilitada temperatuuril 2–8 °C 10 päeva, ilma et see mõjutaks selle funktsiooni. Toodet ei ole soovitatav säilitada üle 10 päeva.

ÄRGE KÜLMUTAGE TOODET COMPLETE CHANG MEDIUM C.

**ETTEVAATUSABINÕUD JA HOIATUSED**

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

Ärge kasutage toote CHANG Medium C komponente pärast toote etiketil näidatud aegumiskuupäeva.

## MAGYAR

### FELHASZNÁLÁSI JAVALLATOK

1. az amniotikus C a következőkre használható:
  1. az amniotikus folyadék sejteinek elsődleges tenyésztése;
  2. az amniotikus folyadék passzált sejteinek növesztése;
  3. csontvelősejtek tenyésztése;
  4. szilárd amniionszövet mintavételezése chorionbolyhokból.

EZT A MÉDIUMOT NYITOTT (5%-OS CO<sub>2</sub>-ATMOSZFÉRÁVAL EKVILIBRÁLT TENYÉSZETEK) ÉS ZÁRT TENYÉSZTŐRENDSZEREKBE (5%-OS CO<sub>2</sub>-VEL ELÁRASZTOTT ÉS SZOROSAN LEZÁRT TENYÉSZTŐEDÉNYEKBE INKUBÁLT TENYÉSZETEK) TÖRTÉNŐ HASZNÁLATRA IS TERVEZTEK.

### TERMÉKISMERTETÉS

A CHANG Medium C a humán amniotikus folyadék sejteinek elsődleges tenyésztésére lett kifejlesztve, kariotípus meghatározásához és más antenatális genetikai vizsgálatokhoz. AZ ÖSSZETÉTELENT NYITOTT ÉS ZÁRT RENDSZEREKHEZ IS OPTIMALIZÁLTÁK.

### ÖSSZETEVŐK

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

### MINŐSÉGBIZTOSÍTÁS

#### STERILITÁS

A CHANG Medium C Supplement előállításához használt szérum vírusszennyeződését a CFR 9. címének 113.53 része szerint vizsgálták. A médium mikoplazmaszennyeződését is megvizsgálták. A CHANG Medium B Basal és a CHANG Medium C Supplement sterilizálása is 0,1 mikronos szűrőn át történő szűréssel történt. A CHANG Medium B Basal és a CHANG Medium C Supplement reprezentatív mintáit a jelenlegi Amerikai Gyógyszerkönyv sterilizációs vizsgálatában <71> leírt sterilizációs vizsgálati protokollt követve tesztelik a lehetséges bakteriológiai szennyeződésre.

### ELŐKÉSZÍTÉS A FELHASZNÁLÁSRA

#### Liofilizált kiegészítő készítmény

1. Hagyja szobahőmérsékleten egyensúlyba kerülni a CHANG Medium C Lyophilized Supplement készítményt.
2. Aszeptikus technikát alkalmazva adjon 10 ml vagy 50 ml steril desztillált vizet a liofilizátumhoz. A 10 ml-es fiola a 90 ml-es CHANG Medium B Basal médiumhoz, az 50 ml-es fiola a 450 ml-es CHANG Medium B Basal készítményhez tartozik.
3. A teljes feloldáshoz óvatosan forgassa a fiolát.

(MEGJEGYZÉS: Előfordulhat, hogy a fiolát 37 °C-on 5–10 percig inkubálni kell a kiegészítő készítmény teljes feloldásához.)

4. Aszeptikusan tegye át a feloldott CHANG Medium C Supplement teljes tartalmát a CHANG Medium B Basal üvegébe.
5. Keverje össze alaposan a teljes CHANG Medium C médiumot az üveg forgatásával.
6. Adjon hozzá 10,0 ml/l (200 mM) L-glutamint. Szükség esetén hozzáadhat antibiotikumot.

#### Fagyasztott kiegészítő készítmény

1. Olvassza fel gyorsan a CHANG Medium C Frozen Supplement készítményt a fiola 37 °C-os vízfürdőben történő forgatásával.
2. Aszeptikusan tegye át a felolvasztott CHANG Medium C Supplement teljes tartalmát a CHANG Medium B Basal üvegébe.
3. Keverje össze alaposan a teljes CHANG Medium C médiumot az üveg forgatásával.
4. Adjon hozzá 10,0 ml/l (200 mM) L-glutamint. Szükség esetén hozzáadhat antibiotikumot.

### A CHANG MEDIUM C SUPPLEMENT SZÉTOSSZTÁSA

#### Liofilizált kiegészítő készítmény

Ha 10 napon belül nem tudja felhasználni a teljes CHANG Medium C médiumot, érdemes lehet kisebb mennyiségekre osztani az eljárás módosítását követve:

1. Oldja fel a CHANG Medium C Lyophilized Supplement készítményt.
2. Aszeptikusan ossza a kívánt méretű alikvotokra, és fagyassza le.
3. A CHANG Medium B Basal készítményt is ossza aszeptikusan ugyanennyi számú alikvottra.
4. A teljes CHANG Medium C médium elkészítéséhez adjon egy alikvot felolvasztott CHANG Medium C Supplement készítményt egy alikvot CHANG Medium B Basal készítményhez.
5. Keverje össze alaposan.

#### Fagyasztott kiegészítő készítmény

1. Olvassza fel a CHANG Medium C Frozen Supplement készítményt.
2. Aszeptikusan ossza a kívánt méretű alikvotokra, és fagyassza le újra. (MEGJEGYZÉS: A kiegészítő készítményt tartalmazó fiola 14 ml-t vagy 70 ml-t tartalmaz. Ossa egyenlőre részekre.)
3. A CHANG Medium B Basal készítményt is ossza aszeptikusan ugyanennyi számú alikvottra.
4. A teljes CHANG Medium C médium elkészítéséhez adjon egy alikvot felolvasztott CHANG Medium C Supplement készítményt egy alikvot CHANG Medium B Basal készítményhez.
5. Keverje össze alaposan.

### HASZNÁLATI UTASÍTÁS

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 CO<sub>2</sub>-inkubátorba teszi, enyhén meglazított kupakkal.

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

A termékek használatára vonatkozó további részletekért minden laboratóriumnak a saját laboratóriumi eljárásait és protokolljait kell figyelembe vennie, amelyeket specifikusan a saját orvosi programjukhoz hoztak létre és optimalizáltak.

### A CHANG Medium C felhasználása

#### elsődleges tenyésztéshez: *In situ* módszerek

1. Centrifugálja az amniotikus folyadékot alacsony sebességgel a sejtek koncentrálsához.
2. Szuszpendálja fel újra a sejt pelletet a beteg saját amniotikus folyadékának kis mennyiségében. Például szívja fel 10 ml centrifugált amniotikus folyadék felülűsóját 0,5 ml-re a sejt pellet fölé, és szuszpendálja fel újra. Adjon elegendő CHANG Medium C médiumot a koncentrált sejtszuszpenzióhoz 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%-os CO<sub>2</sub>-atmoszférában.
4. Árassza el a tenyészeteket a 2. napon 2 ml CHANG Medium C 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 felülűsóját, és helyettesítse 2 ml friss CHANG Medium C 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 C médiummal táplálják.

### A CHANG Medium C felhasználása elsődleges tenyésztéshez: Flaska módszerek

1. Centrifugálja az amniotikus folyadékot alacsony sebességgel a sejtek koncentrálsához.
2. Szuszpendálja fel újra a sejt pelletet a beteg saját amniotikus folyadékának kis mennyiségében. Például szívja fel 10 ml centrifugált amniotikus folyadék felülűsóját 1 ml-re a sejt pellet fölé, és szuszpendálja fel újra. Adjon 4 ml CHANG Medium C médiumot a flaskánként 5 ml-es teljes térfogathoz.
3. Inkubálja a tenyészeteket zavartalanul 37 °C-on, 5%-os CO<sub>2</sub>-atmoszférában.
4. Ellenőrizze a növekedést az 5. napon. Cserélje ki a médiumot friss CHANG Medium C 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 második napon 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 C médiummal táplálják.

MEGJEGYZÉS: Zárt rendszerek esetén minden egyes tenyésztőflaskát öblítsen át 5% CO<sub>2</sub> és 95% levegő keverékével 20 másodpercig. Szorítsa a kupakokat a tenyésztőflaskákra, és inkubálja a flaskákat 37 °C-on. (Javasoljuk, hogy a bejövő gáz sterilizálásának biztosítása érdekében csatlakoztasson egy steril, dugóval ellátott Pasteur-pipettát a CO<sub>2</sub>-forráshoz.)

### A CHANG Medium C felhasználása az amniotikus folyadék passzált sejteinek növesztéséhez:

A sejtek passzálásához kezelje a tenyészeteket tripszinnel (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 C médiumban növekvő sejteit általában érzékenyebbek a proteázkezelésre, mint a hagyományos médiumban növekvő sejtek. Ennek figyelembevételéhez szükséges lehet a protokoll módosítása.

### TÁROLÁS ÉS STABILITÁS

A CHANG Medium C Frozen Supplement készítményt –10 °C alatti hőmérsékleten, a CHANG Medium C Lyophilized Supplement készítményt 2 °C és 8 °C között, a CHANG Medium B Basal készítményt 2 °C és 8 °C között, a Complete CHANG Medium C médiumot 2 °C és 8 °C között tárolja. A CHANG Medium B Basal készítményt tilos fagyasztani. Védje a fluoreszcens fénytől.

Az adott lejárati dátumokra vonatkozóan lásd az egyes összetevők üvegén található címkéket. A Complete CHANG Medium C 2 °C és 8 °C közötti hőmérsékleten 10 napig tárolható a használat előtt anélkül, hogy ez befolyásolná a funkcióját. 10 napnál hosszabb ideig tartó tárolás nem ajánlott.

NE FAGYASSZA LE A COMPLETE CHANG MEDIUM C MÉDIUMOT.

### ÖVINTÉZKEDÉSEK ÉS FIGYELMEZTETÉSEK

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

Ne használja a CHANG Medium C összetevőit az egyes címkéken feltüntetett lejárati időn túl.



## LIEUVIŲ K.

### NAUDOJIMO INDIKACIJA

„CHANG Medium C“ terpę galima naudoti šioms paskirtims:

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

ŠI TERPĖ YRA SKIRTA NAUDOTI ATVIROSE (KULTŪROS STABILIZUOTOS 5 % CO<sub>2</sub> ATMOSFEROJE) IR UŽDAROSE KULTŪRŲ SISTEMOSE (KULTŪROS APSEMTOS 5 % CO<sub>2</sub> IR LAIKOMOS INKUBATORIUJE PATIKIMAI UŽDARIUS KULTŪRŲ INDUS).

### ĮTAISO APRAŠYMAS

„CHANG Medium C“ terpė buvo sukurta žmogaus amniono skysčio ląstelių pirminei kultūrai ir yra skirta naudoti atliekant kariotipavimą ir kitą prenatalinį genetinį tyrimą. ŠI FORMULĖ BUVO OPTIMIZUOTA NAUDOTI ATVIROSE IR UŽDAROMS SISTEMOMS.

### SUDEDAMOSIOS DALYS

<u>Druskos ir jonai</u>	<u>Baltymai, hormonai ir augimo faktoriai</u>	<u>Energetiniai substratai</u>
Natrio chloridas	Jaučio embriono kraujo serumas	Gliukozė
Natrio selenitas	(FBS)	Piruvatas
Kalcio chloridas	Jaučio naujagimio kraujo serumas	Inozitolis
Cholino chloridas	Žmogaus transferinas	pH indikatorius
Kalio chloridas	Fibroblasto augimo faktorius (FGF)	Fenolio raudonasis
Kalio fosfatas	Insulinas	Vitaminai ir mikroelementai
Magnio chloridas	Progesteronas	Askorbo rūgštis
Magnio sulfatas	Testosteronas	Folio rūgštis
Natrio fosfatas	Beta estradiolis	Nikotinamidas
Geležies sulfatas	Hidrokorizonas	Riboflavinas
Vario sulfatas	Vanduo	Tiaminas
Cinko sulfatas	Argininas	Pantotininė rūgštis
<u>Buferinis tirpalas</u>	Natrio bikarbonatas	Kobalaminas
Natrio bikarbonatas	<u>Amino rūgštys</u>	Piridoksalis
Alaninas	Argininas	Piridoksinas
Argininas	Asparaginas	
Asparaginas	Asparto rūgštis	
Asparto rūgštis	Cisteinas	
Cisteinas	Cistinas	
Cistinas	Glutamo rūgštis	
Glutamo rūgštis	Glutaminas	
Glutaminas	Glicinas	
Glicinas	Histidinas	
Histidinas	Izoleucinas	
Izoleucinas	Leucinas	
Leucinas	Lizinas	
Lizinas	Metioninas	
Metioninas	Penilalaninas	
Penilalaninas	Prolinas	
Prolinas	Serinas	
Serinas	Treoninas	
Treoninas	Triptofanas	
Triptofanas	Tirozinas	
Tirozinas	Valinas	
Valinas		

### KOKYBĖS UŽTIKRINIMAS

#### STERILUMAS

„CHANG Medium C“ papildu gamyboje naudotas serumas buvo patikrintas dėl užteršimo virusais pagal CFR 9 antraštinę dalį, 113.53 dalį. Jis taip pat buvo patikrintas, ar nėra mikoplazmos užteršimo. „CHANG Medium B Basal“ ir „CHANG Medium C“ papildas yra sterilizuoti filtruojant per 0,1 mikrono filtrą. „CHANG Medium B Basal“ ir „CHANG Medium C“ papildu tipiniai mėginiai yra ištiriami dėl galimo užteršimo bakterijomis, laikantis sterilumo tyrimo protokolo, kuris apibūdintas pagal šiuo metu patvirtintą Jungtinių Valstijų farmakopėjos sterilumo testą <71>.

### PARUOŠIMAS NAUDOTI

#### Liofilizuotas papildas

1. Palkite „CHANG Medium C“ liofilizuotą papildą pastovėti, kol taps kambario temperatūros.
2. Taikydami aseptinius metodus, į liofilizatą pridėkite 10 arba 50 ml sterilaus distiliuoto vandens. 10 ml flakonas yra skirtas 90 ml „CHANG Medium B Basal“; 50 ml flakonas – 450 ml „CHANG Medium B Basal“.
3. Švelniai pasukinėkite flakoną, kad tirpalas susimaišytų. (PASTABA. Flakoną gali reikėti palaikyti inkubatoriuje 37 °C temperatūroje 5–10 minučių, kad papildas visiškai ištirptų).
4. Perkelkite visą atskiesto „CHANG Medium C“ papildu turinį į „CHANG Medium B Basal“ buteliuką, taikydami aseptinius metodus.
5. Sukdami buteliuką gerai sumaišykite „CHANG

Medium C“.

6. Pridėkite L-glutamino – 10,0 ml/l (200 mM). Jei pageidaujama, galima pridėti antibiotikų.

#### Sušaldytas papildas

1. Atšildykite „CHANG Medium C“ sušaldytą papildą, greitai sukdami flakoną 37 °C temperatūros vandens vonelėje.
2. Perkelkite visą atšildyto „CHANG Medium C“ papildu turinį į „CHANG Medium B Basal“ buteliuką, taikydami aseptinius metodus.
3. Sukdami buteliuką gerai sumaišykite „CHANG Medium C“.
4. Pridėkite L-glutamino – 10,0 ml/l (200 mM). Jei pageidaujama, galima pridėti antibiotikų.

### „CHANG MEDIUM C“ PRIEDO DALIJIMAS Į PORCIJAS

#### Liofilizuotas papildas

Jei per 10 dienų sunaudosite ne visą „CHANG Medium C“ terpę, galite pasigaminti mažesnius jos kiekius, laikydamiesi šios modifikuotos procedūros:

1. Atskieskite „CHANG Medium C“ liofilizuotą papildą.
2. Aseptiškai paskirstykite į patogaus naudoti dydžio alikvotines dalis ir užšaldykite.
3. Aseptiškai padalykite „CHANG Medium B Basal“ į atitinkamą alikvotinių dalių skaičių.
4. Norėdami paruošti „CHANG Medium C“, vieną atšildyto „CHANG Medium C“ papildu alikvotinę dalį dėkite į vieną „CHANG Medium B Basal“ alikvotinę dalį.
5. Gerai sumaišykite.

#### Sušaldytas papildas

1. Atšildykite „CHANG Medium C“ sušaldytą papildą.
2. Aseptiškai paskirstykite į patogaus naudoti dydžio alikvotines dalis ir pakartotinai užšaldykite. (PASTABA. Papildo flakonas yra 14 arba 70 ml tūrio. Tolygiai paskirstykite.)
3. Aseptiškai padalykite „CHANG Medium B Basal“ į atitinkamą alikvotinių dalių skaičių.
4. Norėdami paruošti „CHANG Medium C“, vieną atšildyto „CHANG Medium C“ papildu alikvotinę dalį dėkite į vieną „CHANG Medium B Basal“ alikvotinę dalį.
5. Gerai sumaišykite.

### NAUDOJIMO NURODYMAI

KULTŪROS MAITINTI NAUDOJAMOS TERPĖS pH TURI BŪTI 6,8–7,2 (t. y. terpė turi būti gelsvos lašišinės spalvos). pH galima lengvai pakoreguoti įdedant terpę į 5–8 % CO<sub>2</sub> inkubatorių, šiek tiek atsukus dangtelį. Galutinis pH turi būti 6,8–7,2.

Išsamesnių šių produktų naudojimo gairių kiekviena laboratorija turi ieškoti savo vidaus darbo tvarkos taisyklėse ir metodiniuose nurodymuose, specialiai parengtuose ir optimizuotuose pagal atskiros medicininės programos nuostatas.

### „CHANG Medium C“ terpės naudojimas pirminėms ląstelių kultūroms: *in situ* metodai

1. Centrifuguokite amniono skystį nedideliu greičiu, kad koncentruotumėte ląsteles.
2. Resuspenduokite ląstelės granulę nedideliame kiekyje pacientės amniono skysčio. Pavyzdžiui, siurbkite 10 ml supernatanto iš centrifuguoto amniono skysčio, palikdami 0,5 ml virš ląstelės granulės, ir resuspenduokite. Pakankamą kiekį „CHANG Medium C“ terpės įlašinkite į koncentruotą ląstelių suspensiją, kad būtų pasiektas galutinis lėkštelės tūris – 0,5 ml vienam dengiamajam stikleliui (iš viso – 4 dengiamieji stikleliai) arba 2 ml vienai flasketei.
3. Kultūras netrukdomai inkubuokite 37 °C temperatūroje 5 % CO<sub>2</sub> atmosferoje.
4. 2-ąją dieną apsemkite kultūras, pridėdami 2 ml „CHANG Medium C“ 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 C“ terpės. Vėliau rekomenduojama kultūras maitinti kas 2 dienas.

6. 5-ą dieną arba po 5 dienų patikrinkite kultūrų augimą ir aptikę pakankamai kolonijų ląsteles surinkite.
7. Geriausių rezultatų pasiekiami kultūras maitinant „CHANG Medium C“ terpėje, likus dienai iki kultūrų ėmimo.

### „CHANG Medium C“ terpės naudojimas pirminėms ląstelių kultūroms: Kolbos metodologijos

1. Centrifuguokite amniono skystį nedideliu greičiu, kad koncentruotumėte ląsteles.
2. Resuspenduokite ląstelės granulę nedideliame kiekyje pacientės amniono skysčio. Pavyzdžiui, siurbkite 10 ml supernatanto iš centrifuguoto amniono skysčio, palikdami 1 ml virš ląstelės granulės, ir resuspenduokite. Įpilkite 4 ml „CHANG Medium C“ terpės, kad kiekvienoje kolboje būtų po 5 ml.
3. Kultūras netrukdomai inkubuokite 37 °C temperatūroje 5 % CO<sub>2</sub> atmosferoje.
4. 5-ąją dieną patikrinkite augimą. Pakeiskite terpę šviežia „CHANG Medium C“ terpe ir imkite kultūras, jei pastebėjote, kad užaugo pakankamai ląstelių.
5. Po to kas antrą dieną patikrinkite kultūrų augimą visiškai pakeiskite terpę, kol bus priaugusių pakankamai kolonijų, kurias galima surinkti.
6. Geriausių rezultatų pasiekiami kultūras maitinant „CHANG Medium C“ terpėje, likus dienai iki kultūrų ėmimo.

PASTABA. Kultivuodami uždarosiose sistemose, kiekvieną pasėlio flakonėlį 20 sekundžių eksponuokite 5 % CO<sub>2</sub> ir 95 % oro mišiniu. Sandariai prisukę dangtelius, flakonėlius su kultūromis inkubuokite 37 °C temperatūroje. (Rekomenduojama prie CO<sub>2</sub> šaltinio prijungti sterilią Pastero pipetę su kamštuku, užtikrinant įeinančių dujų sterilumą.)

### „CHANG Medium C“ terpės naudojimas auginant perkeltas amniono skysčio ląsteles

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

### LAIKYMAS IR STABILUMAS

„CHANG Medium C“ sušaldytą papildą laikykite žemesnėje kaip –10 °C temperatūroje, „CHANG Medium C“ liofilizuotą papildą – 2–8 °C temperatūroje, „CHANG Medium B Basal“ – 2–8 °C temperatūroje, o visą „CHANG Medium C“ – 2–8 °C temperatūroje. „CHANG Medium B Basal“ negalima užšaldyti.

Saugoti nuo fluorescencinių spindulių. Konkrecios galiojimo pabaigos datos ieškokite individualių sudedamųjų dalių etiketėse. Visą „CHANG Medium C“ galima laikyti 2–8 °C temperatūroje 10 dienų – per šį laiką jos savybės nepakinta. Nerekomenduojama laikyti ilgiau kaip 10 dienų.

### NEŠALDYKITE VISOS „CHANG MEDIUM C“.

### ATSARGUMO PRIEMONĖS IR ĮSPĖJIMAI

Ši priemonė yra skirta naudoti darbuotojams, išmokytiems atlikti procedūras, susijusias su priemonės taikymu pagal numatytą paskirtį. Nenaudokite „CHANG Medium C“ sudedamųjų dalių pasibaigus etiketėse nurodytai galiojimo pabaigos datai.

## TÜRKÇE

### KULLANIM ENDİKASYONU

CHANG Medium C şu uygulamalar için kullanılabilir:

1. amniyotik sıvı hücrelerinin primer kültürü
2. pasaj yapılmış amniyotik sıvı hücrelerini üretme
3. kemik iliği hücrelerinin kültürü
4. koryonik villus örneklemesinden solid amniyotik doku.

BU VASAT HEM AÇIK (%5 CO<sub>2</sub> ATMOSFERİNDE DENGELENMİŞ KÜLTÜRLER) HEM KAPALI (%5 CO<sub>2</sub> DOLDURULMUŞ VE KÜLTÜR KAPAĞI SIKICA KAPATILMIŞ OLARAK İNKÜBE EDİLMİŞ KÜLTÜRLER) KÜLTÜR SİSTEMLERİYLE KULLANILMAK ÜZERE TASARLANMIŞTIR.

### ÇİHAZ TANIMI

CHANG Medium C karyotipleme ve diğer antenatal genetik testlerde kullanıma yönelik olarak insan amniyotik sıvı hücrelerinin primer kültürü için geliştirilmiştir. BU FORMÜL HEM AÇIK HEM KAPALI SİSTEMLER İÇİN OPTİMİZE EDİLMİŞTİR.

### BİLEŞENLER

<u>Tuzlar ve İyonlar</u>	<u>Proteinler,</u>	<u>pH Göstergesi</u>
Sodyum Klorür	<u>Hormonlar ve</u>	Fenol kırmızısı
Sodyum Selenit	<u>Büyüme Faktörleri</u>	<u>Vitaminler ve</u>
Kalsiyum Klorür	Fetal sığır serumu	<u>eser elemanlar</u>
Kolin Klorür	(FSS)	Askorbik asit
Potasyum Klorür	Yenidoğan sığır	Folik asit
Potasyum Fosfat	serumu	Nikotinamid
Magnezyum Klorür	İnsan transferrini	Riboflavin
Magnezyum Sülfat	Fibroblast büyüme	Tiyamin
Sodyum Fosfat	faktörü (FGF)	Pantoteniik asit
Ferröz Sülfat	İnsülin	Kobalamin
Kuprik Sülfat	Progesteron	Piridoksal
Çinko Sülfat	Testosteron	Piridoksin
<u>Tampon</u>	Beta estradiol	
Sodyum Bikarbonat	Hidrokortizon	
<u>Amino Asitler</u>	<u>Su</u>	
Alanin	Enjeksiyonluk	
Arjinin	Su Kalitesi	
Asparajin	<u>Diğer</u>	
Aspartik Asit	Hipoksantin	
Sistein	Biyotin	
Sistin	Putresin	
Glutamik Asit	Etil alkol	
Glutamin	<u>Antioksidan</u>	
Glisin	Tiyotik asit	
Histidin	<u>Nükleik asitler</u>	
İzölösün	Deoksiadenozin	
Lösün	Deoksisitidin	
Lizin	Deoksiguanozin	
Metiyonin	Adenozin	
Fenilalanin	Sitidin	
Prolin	Guanozin	
Serin	Timidin	
Treonin	Üridin	
Triptofan	<u>Enerji Substratları</u>	
Tirozin	Glukoz	
Valin	Piruvat	
	inositol	

### KALİTE GÜVENÇE

#### STERİLİTE

CHANG Medium C üretiminde kullanılan serum, CFR Başlık 9 Kısım 113.53 uyarınca viral kontaminasyon için test edilmiştir. Ayrıca mikoplazma kontaminasyonu için taranmıştır. CHANG Medium B Basal ve CHANG Medium C Takviyesi 0,1 mikron bir filtreden filtrasyon yoluyla sterilize edilmiştir. CHANG Medium B Basal ve CHANG Medium C Takviye temsili örnekleri mevcut USP sterilite testi <71> içinde tanımlanan sterilite testi protokolü izlenerek olası bakteriyolojik kontaminasyon açısından test edilir.

### KULLANIM HAZIRLIĞI

#### Liyofilize Takviye

1. CHANG Medium C Liyofilize Takviye ürününün oda sıcaklığına dengelenmesini bekleyin.
2. Aseptik teknikler kullanılarak liyofilizata 10 mL veya 50 mL steril distile su ekleyin. 10 mL flakon 90 mL CHANG Medium B Basal ürünü içindir; 50 mL flakon 450 mL CHANG Medium B Basal ürünü içindir.
3. Tüm solüsyonu etkilemek üzere yavaşça çevirin. (NOT: Takviyeyi tamamen çözmek için flakonun 37°C'de 5 - 10 dakika inkübe etmek gerekebilir).
4. Sulandırılmış CHANG Medium C Takviye ürününün tüm içeriğini CHANG Medium B Basal şişesi içine aseptik olarak aktarın.

5. Complete CHANG Medium C ürününü şişeyi çevirerek iyice karıştırın.
6. L-Glutamin, 10,0 mL/L (200 mM) ekleyin. İstenirse antibiyotikler eklenebilir.

### Dondurulmuş Takviye

1. CHANG Medium C Dondurulmuş Takviye ürününü flakonun bir 37°C su banyosunda çevirerek hızla çözün.
2. Çözünmüş CHANG Medium C Takviye ürününün tüm içeriğini CHANG Medium B Basal şişesi içine aseptik olarak aktarın.
3. Complete CHANG Medium C ürününü şişeyi çevirerek iyice karıştırın.
4. L-Glutamin, 10,0 mL/L (200 mM) ekleyin. İstenirse antibiyotikler eklenebilir.

### CHANG MEDIUM C TAKVİYE

#### ALIKOTLAMA

#### Liyofilize Takviye

Tüm CHANG Medium C ürününü 10 gün içinde kullanamayacaksanız bu işlem modifikasyonunu izleyerek daha küçük miktarlar oluşturmak isteyebilirsiniz:

1. CHANG Medium C Liyofilize Takviye ürününü sulandırın.
2. Uygun büyüklükte alikotlara aseptik olarak dağıtın ve dondurun.
3. Ayrıca CHANG Medium B Basal ürünü karşılık gelen sayıda alikota aseptik olarak verin.
4. Complete CHANG Medium C hazırlamak için bir alikot çözülmüş CHANG Medium C Takviye ürünü bir alikot CHANG Medium B Basal ürününe ekleyin.
5. İyice karıştırın.

#### Dondurulmuş Takviye

1. CHANG Medium C Dondurulmuş Takviye ürünü çözün.
2. Uygun büyüklükte alikotlara aseptik olarak dağıtın ve tekrar dondurun. (NOT: Takviye flakonun 14 mL veya 70 mL içerir. Eşit olarak dağıtın.)
3. Ayrıca CHANG Medium B Basal ürünü karşılık gelen sayıda alikota aseptik olarak verin.
4. Complete CHANG Medium C hazırlamak için bir alikot çözülmüş CHANG Medium C Takviye ürünü bir alikot CHANG Medium B Basal ürününe ekleyin.
5. İyice karıştırın.

### KULLANMA TALİMATI

KÜLTÜRLERİ BESLEMELİK İÇİN KULLANILAN VASATIN pH DEĞERİ 6,8 - 7,2 OLMALIDIR (yani vasat hafif sarımsı pembe olmalıdır). pH, vasatı kapağı hafifçe gevşetilmiş olarak bir %5 - %8 CO<sub>2</sub> inkübatörüne koyarak kolayca ayarlanabilir.

Son pH 6,8 - 7,2 olmalıdır.

Bu ürünlerin kullanımı hakkında ek ayrıntılar açısından her laboratuvar kendi ayrı tıbbi programınız için özel olarak geliştirilmiş ve optimize edilmiş, kendi laboratuvar işlemleri ve protokollerine başvurmalıdır.

### Primer Kültürler için CHANG Medium C Kullanımı: İn Situ Metodolojiler

1. Hücreleri konsantre etmek için amniyotik sıvıyı düşük hızda santrifüjleyin.
2. Hücre pelletini hastanın kendi amniyotik sıvısının küçük bir miktarında tekrar süspansiyon haline getirin. Örneğin santrifüjlenmiş 10 mL amniyotik sıvının süpernatantını hücre pelletinin 0,5 mL üzerine kadar aspire edin ve tekrar süspansiyon haline getirin. Konsantre 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 C ekleyin.
3. Kültürleri ellemeyen 37°C %5 CO<sub>2</sub> atmosferi altında inkübe edin.
4. Kültürleri gün 2'de 2 mL CHANG Medium C ekleyerek tamamen sıvıyla örtün.
5. Kültürlerin 4 - 5 günden sonra üreme açısından kontrol edilmesi gerekir. Kültürler üreme gözlemlerinden sonra beslenmelidir. Kültürleri tüm kültür süpernatantını alıp yerine 2 mL yeni CHANG Medium C koyarak besleyin. Bundan sonra kültürlerin 2 günde bir beslenmesi önerilir.
6. Kültürleri 5. günde veya sonrasında üreme için kontrol edin ve yeterli koloni gözlenince toplayın.
7. En iyi sonuçlar kültürlerin toplama öncesi günde CHANG Medium C ile beslenmesiyle alınır.

### Primer Kültürler için CHANG Medium C Kullanımı: Flask Metodolojileri

1. Hücreleri konsantre etmek için amniyotik sıvıyı düşük hızda santrifüjleyin.
2. Hücre pelletini hastanın kendi amniyotik sıvısının küçük bir miktarında tekrar süspansiyon haline getirin. Örneğin santrifüjlenmiş 10 mL amniyotik sıvının süpernatantını hücre pelletinin 1 mL üzerine kadar aspire edin ve tekrar süspansiyon haline getirin. Flask başına toplam 5 mL hacim için 4 mL CHANG Medium C ekleyin.
3. Kültürleri ellemeyen 37°C %5 CO<sub>2</sub> atmosferi altında inkübe edin.
4. Gün 5'te üreme için kontrol edin. Vasatı yeni CHANG Medium C ile değiştirin ve yeterli hücre üremesi gözlenirse toplayın.
5. Kültürlerin üreme durumunu kontrol edin ve bundan sonra yeterli koloni gözlenene ve toplamaya hazır olana kadar iki günde bir vasatı tamamen değiştirin.
6. En iyi sonuçlar kültürlerin toplama öncesi günde CHANG Medium C ile beslenmesiyle alınır.

NOT: Kapalı sistemler için her kültür flaskından 20 saniye boyunca %5 CO<sub>2</sub> - %95 hava geçirin. Kültür flasklarının kapaklarını sıkın ve 37°C'de inkübe edin. (Gelen gazın sterilitesini sağlamak üzere CO<sub>2</sub> kaynağına steril tıkaçlı bir Pasteur pipetinin takılması önerilir).

### Pasaj Yapılmış Amniyotik Sıvı Hücrelerini

**Büyütmek için CHANG Medium C kullanımı:** Hücre pasajı yapmak için kültürleri, hücreler geleneksel vasatta üretildiğinde normalde yapacağımız gibi tripsin (veya Pronase vs.) muamelesi yapın. Ancak proteaz tedavisi dikkatle izlenmelidir. Amniyotik sıvı hücreleri CHANG Medium C içinde büyütüldüğünde geleneksel vasatta büyütülenlere göre proteaz tedavisine daha duyarlı olma eğilimindedir. Protokolünüzü bunu hesaba alacak şekilde değiştirmek gerekebilir.

### SAKLAMA VE STABİLİTE

CHANG Medium C Dondurulmuş Takviye ürünü -10°C altında, CHANG Medium C Liyofilize Takviye ürünü 2°C ile 8°C arasında, CHANG Medium B Basal ürünü 2°C ile 8°C arasında ve Complete CHANG Medium C ürünü 2°C ile 8°C arasında saklayın. CHANG Medium B Basal dondurulmamalıdır.

Floresan ışıktan koruyun.

Spesifik son kullanma tarihleri için ayrı bileşen şişesi etiketlerine bakınız. Complete CHANG Medium C işlevi etkilenmeden kullanım öncesi 2°C - 8°C arasında 10 gün boyunca saklanabilir. 10 günden fazla saklama önerilmez.

### COMPLETE CHANG MEDIUM C ÜRÜNÜNÜ

DONDURMAYIN.

### ÖNLEMLER VE UYARILAR

Bu cihazın, cihaz kullanımının amaçlanmış olduğu belirtilen uygulamanın dahil olduğu işlemler konusunda eğitimli personelce kullanılması amaçlanmıştır. CHANG Medium C bileşenlerini ayrı etiketlerde belirtilen son kullanma tarihinden sonra kullanmayın.

**INDIKÁCIA NA POUŽITIE**

CHANG Medium C možno použiť na nasledujúce aplikácie:

1. primárnu kultiváciu buniek plodovej vody
2. rast pasážovaných buniek plodovej vody
3. kultiváciu buniek kostnej drene
4. vzorkovanie pevného zárodočného tkaniva z choriových klkov.

TOTO MÉDIUM BOLO NAVRHNUTÉ NA POUŽITIE V OTVORENÝCH (KULTÚRACH USTÁLENÝCH S ATMOSFÉROU 5 % CO<sub>2</sub>) AJ ZATVORENÝCH KULTIVAČNÝCH SYSTÉMOCH (KULTÚRACH ZALIATYCH 5 % CO<sub>2</sub> A INKUBOVANÝCH S TESNE UZAVRETÝMI KULTIVAČNÝMI NÁDOBAMI).

**POPIS ZARIADENIA**

CHANG Medium C bolo vyvinuté na primárnu kultiváciu buniek plodovej vody na použitie pri karyotypovaní a iných prenatálnych genetických testoch. TÁTO RECEPTÚRA BOLA OPTIMALIZOVANÁ PRE OTVORENÉ AJ ZATVORENÉ SYSTÉMY.

**ZLOŽKY**

<u>Soli a ióny</u>	<u>Bielkoviny, hormóny a rastové faktory</u>	<u>Indikátor pH</u>
chlorid sodný	fetálne boviné sérum (FBS)	fenolová červená
seleničitan sodný	neonatálne boviné sérum	<u>Vitamíny a stopové prvky</u>
chlorid vápenatý	ľudský transferín	kyselina askorbová
chlorid vápenatý	fibroblastový rastový faktor (FGF)	kyselina listová
chlorid draselný	inulín	nikotínamid
fosforečnan draselný	progesterón	riboflavín
chlorid horečnatý	testosterón	tiamín
síran horečnatý	beta estradiol	kyselina
fosfát sodný	hydrokortizón	pantoténová
síran železnatý	<u>Voda</u>	kobalamin
síran meďnatý	hydrogénuhličitan sodný	pyridoxal
síran zinečnatý	hydrogénuhličitan sodný	pyridoxín
<u>Pufer</u>	<u>liné</u>	
hydrogénuhličitan sodný	alanín	
<u>Aminokyseliny</u>	arginín	
alanín	asparagín	
arginín	kyselina asparagová	
asparagín	cystein	
kyselina asparagová	cystín	
cystein	kyselina glutámová	
cystín	glutamín	
kyselina glutámová	glycín	
glutamín	histidín	
glycín	izoleucín	
histidín	leucín	
izoleucín	lyzín	
leucín	metionín	
lyzín	fenylalanín	
metionín	prolín	
fenylalanín	serín	
prolín	treonín	
serín	tryptofán	
treonín	tyrozín	
tryptofán	valín	
tyrozín		
valín		

**KONTROLA KVALITY****STERILITA**

Sérum použité pri výrobe CHANG Medium C Supplement bolo testované na vírusovú kontamináciu podľa CFR, kapitoly 9, časti 113.53. Podstúpilo tiež skríning na mykoplazmatickú kontamináciu. CHANG Medium B Basal aj CHANG Medium C Supplement sú sterilizované filtráciou cez 0,1-mikrónový filter. Reprezentatívne vzorky CHANG Medium B Basal aj CHANG Medium C Supplement sú testované na možnú bakteriologickú kontamináciu podľa protokolu na testovanie sterility popísaného v aktuálnom teste sterility USP<71>.

**PRIPRAVA NA POUŽITIE****Lyofilizovaný doplnok**

1. Lyofilizovaný doplnok CHANG Medium C nechajte vyteperovať na izbovú teplotu.
2. Pomocou aseptických techník pridajte 10 ml alebo 50 ml sterilnej destilovanej vody do lyofilizátu. 10 ml skúmavka je na 90 ml CHANG Medium B Basal, 50 ml skúmavka je na 450 ml CHANG Medium B Basal.
3. Skúmavkou jemne zavírite, aby sa vytvoril kompletný roztok. (POZNÁMKA: Je možné, že skúmavku bude potrebné inkubovať pri teplote 37 °C 5 až 10 minút, aby sa doplnok úplne rozpustil.)

4. Celý obsah rekonštituovaného CHANG Medium C Supplement asepticky preneste do fľaše s CHANG Medium B Basal.
5. Kompletné CHANG Medium C dobre pomiešajte vírením fľaše.
6. Pridajte L-glutamin, 10,0 ml/l (200 mM). Ak chcete, možno pridať antibiotiká.

**Zmrazený doplnok**

1. Zmrazený doplnok CHANG Medium C rýchlo rozmrazte vírením skúmavky vo vodnom kúpeli pri teplote 37 °C.
2. Celý obsah rozmrazeného CHANG Medium C Supplement asepticky preneste do fľaše s CHANG Medium B Basal.
3. Kompletné CHANG Medium C dobre pomiešajte vírením fľaše.
4. Pridajte L-glutamin, 10,0 ml/l (200 mM). Ak chcete, možno pridať antibiotiká.

**ALIKVOTOVANIE CHANG MEDIUM C SUPPLEMENT****Lyofilizovaný doplnok**

Ak nemôžete použiť kompletné CHANG Medium C do 10 dní, môžete si pripraviť menšie množstvá takouto modifikáciou postupu:

1. Rekonštituujte lyofilizovaný doplnok CHANG Medium C.
2. Asepticky ho distribuujte do alikvót vhodnej veľkosti a zmrazte.
3. CHANG Medium B Basal tiež asepticky nadávkujte do príslušného počtu alikvót.
4. Na prípravu kompletného CHANG Medium C pridajte jednu alikvótu rozmrazeného CHANG Medium C Supplement do jednej alikvóty s CHANG Medium B Basal.
5. Dobre zamiešajte.

**Zmrazený doplnok**

1. Rozmrazte zmrazený doplnok CHANG Medium C.
2. Asepticky ho distribuujte do alikvót vhodnej veľkosti a znovu zmrazte. (POZNÁMKA: Skúmavka s doplnkom obsahuje 14 ml alebo 70 ml. Distribuujte rovnomerne.)
3. CHANG Medium B Basal tiež asepticky nadávkujte do príslušného počtu alikvót.
4. Na prípravu kompletného CHANG Medium C pridajte jednu alikvótu rozmrazeného CHANG Medium C Supplement do jednej alikvóty s CHANG Medium B Basal.
5. Dobre zamiešajte.

**NÁVOD NA POUŽITIE**

pH MÉDIA POUŽITÉHO NA ŽIVENIE KULTÚR MUSÍ BYŤ MEDZI 6,8 – 7,2 (t. j. médium musí mať mierne žltu-lososovú farbu). pH možno jednoducho upraviť vložением média do inkubátora s 5 % – 8 % CO<sub>2</sub> s mierne uvoľneným vrchnákom. Výsledné pH musí byť 6,8 – 7,2.

Ďalšie podrobnosti o použití týchto produktov by malo každé laboratórium čerpať zo svojich vlastných laboratórnych postupov a protokolov, ktoré boli špecificky vypracované a optimalizované pre váš individuálny medicínsky program.

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

1. Plodovú vodu odstreďte pri nízkej rýchlosti, aby sa koncentrovali bunky.
2. Bunkovú peletu resuspendujte v malom objeme plodovej vody pacientky. Napríklad aspirujte supernatant 10 ml odstredenej plodovej vody na 0,5 ml nad bunkovú peletu a resuspendujte. Pridajte dostatočné množstvo CHANG Medium C 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.
3. Nerušené kultúry inkubujte pri teplote 37 °C v atmosfére 5 % CO<sub>2</sub>.
4. Druhý deň zalejte kultúry pridaním 2 ml CHANG Medium C.

5. Po 4 až 5 dňoch skontrolujte rast na kultúrach. Kultúry treba priživiť, keď sa spozoruje rast. Kultúry prižiďte odstránením všetkého supernatantu kultúry a pridaním 2 ml čerstvého CHANG Medium C. Potom sa odporúča kultúry priživiť každé 2 dni.
6. Rast na kultúrach skontrolujte okolo 5. dňa a vykonajte zber, keď spozorujete dostatočné kolónie.
7. Najlepšie výsledky sa dosiahnu, keď sú kultúry priživené CHANG Medium C deň pred zberom.

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

1. Plodovú vodu odstreďte pri nízkej rýchlosti, aby sa koncentrovali bunky.
2. Bunkovú peletu resuspendujte v malom objeme plodovej vody pacientky. Napríklad aspirujte supernatant 10 ml odstredenej plodovej vody na 1 ml nad bunkovú peletu a resuspendujte. Pridajte 4 ml CHANG Medium C na konečný objem 5 ml na fľaštičku.
3. Nerušené kultúry inkubujte pri teplote 37 °C v atmosfére 5 % CO<sub>2</sub>.
4. Skontrolujte rast na 5. deň. Ak pozorujete dostatočný rast buniek, vymeňte médium za čerstvé CHANG Medium C a vykonajte zber.
5. Skontrolujte rast na kultúrach a potom kompletne vymieňajte médium každý druhý deň dovtedy, kým nepozorujete dostatočné kolónie a nie sú pripravené na zber.
6. Najlepšie výsledky sa dosiahnu, keď sú kultúry priživené CHANG Medium C deň pred zberom.

POZNÁMKA: Pri zatvorených systémoch vypláchnite každú fľaštičku na kultúru 5 % CO<sub>2</sub> – 95 % vzduchom 20 sekúnd. Utiachnite vrchnáky na fľaštičkách s kultúrou a inkubujte ich pri teplote 37 °C. (Odporúča sa, aby bola k zdroju CO<sub>2</sub> pripojená sterilná zazátkovaná Pasteurova pipeta, aby sa zaistila sterilita prívodu plynu.)

**Použitie CHANG Medium C na rast pasážovaných buniek plodovej vody:**

Na pasážovanie buniek ošetrte kultúry trypsinom (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 C 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.

**UCHOVÁVANIE A STABILITA**

Zmrazený doplnok CHANG Medium C uchovávať pri teplote pod -10 °C, lyofilizovaný doplnok CHANG Medium C pri teplote 2 °C až 8 °C, CHANG Medium B Basal pri teplote 2 °C až 8 °C, a kompletné CHANG Medium C pri teplote 2 °C až 8 °C. CHANG Medium B Basal sa nesmie zmrazovať.

Chráňte pred fluorescenčným svetlom.

Špecifické dátumy expirácie nájdete na označeniach jednotlivých fliaš komponentov. Kompletné CHANG Medium C možno uchovávať pri teplote 2 °C až 8 °C 10 dní pred použitím bez ovplyvnenia jeho funkcie. Uchovávanie dlhšie než 10 dní sa neodporúča.

KOMPLETNÉ CHANG MEDIUM C NEZMRAZUJTE.

**BEZPEČNOSTNÉ OPATRENIA****A VAROVANIA**

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

Komponenty CHANG Medium C nepoužívajte po dátume expirácie uvedenom na jednotlivých označeniach.



## БЪЛГАРСКИ

### ПОКАЗАНИЯ ЗА УПОТРЕБА

CHANG Medium C 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 вѐси.
- ТАЗИ СРЕДА Е ПРЕДНАЗНАЧЕНА ЗА ИЗПОЛЗВАНЕ КАКТО В ОТВОРЕНИ (КУЛТУРИ, ЕКВИЛИБРИРАНИ С 5% CO<sub>2</sub> АТМОСФЕРА), ТАКА И В ЗАТВОРЕНИ СИСТЕМИ ЗА КУЛТУРИ (КУЛТУРИ, ЗАЛЕТИ С 5% CO<sub>2</sub> И ИНКУБИРАНИ С ПЛЪТНО ЗАТВОРЕНИ СЪДОВЕ НА КУЛТУРИТЕ).

### ОПИСАНИЕ НА ИЗДЕЛИЕТО

CHANG Medium C е разработена за първично култивиране на клетки от човешка амниотична течност за използване при карิโอтипизиране и други пренатални генетични тестове. ТАЗИ ФОРМУЛА Е ОПТИМИЗИРАНА КАКТО ЗА ОТВОРЕНИ, ТАКА И ЗА ЗАТВОРЕНИ СИСТЕМИ.

### КОМПОНЕНТИ

Соли и йони	Протеини, хормони и растежни фактори	Енергийни субстрати
Натриев хлорид	Фетален говежди серум (FBS)	Глюкоза
Натриев селенит	Говежди серум на новородено	Пируват
Калциев хлорид	Човешки трансферин	Инозитол
Холин хлорид	Фибробластен растежен фактор (FGF)	рН индикатор
Калиев хлорид	Инсулин	Фенол, червен
Калиев фосфат	Прогестерон	Витамици и микроелементи
Магнезиев хлорид	Тестостерон	Аскорбинова киселина
Магнезиев сулфат	Бета естрадиол	Фолиева киселина
Натриев фосфат	Хидрокортизон	Никотинамид
Железен сулфат	Вода	Рибофлавин
Меден сулфат	Качество – вода за инжектиране	Тиамин
Цинков сулфат	Други	Киселина
Буфѐр	Хипоксантин	Биотин
Натриев бикарбонат	Цистин	Путресцин
<u>Аминокиселини</u>	Глутаминова киселина	Етилов алкохол
Аланин	Глутамин	<u>Антиоксидант</u>
Аргинин	Глицин	Тиоктова киселина
Аспарагин	Хистидин	<u>Нуклеинови киселини</u>
Аспарагинова киселина	Изолевцин	Дезоксиадеинозин
Цистеин	Левцин	Дезоксицитидин
Цистин	Лизин	Дезоксигуанозин
Глутаминова киселина	Метионин	Аденозин
Глутамин	Фенилаланин	Цитидин
Глицин	Пролин	Гуанозин
Хистидин	Серин	Тимидин
Изолевцин	Треонин	Уридин
Левцин	Триптофан	
Лизин	Тирозин	
Метионин	Валин	
Фенилаланин		
Пролин		
Серин		
Треонин		
Триптофан		
Тирозин		
Валин		

### КОНТРОЛ НА КАЧЕСТВОТО

#### СТЕРИЛНОСТ

Серумът, използван в производството на CHANG Medium C Supplement, е тестван за вирусна контаминация съгласно CFR Раздел 9 Част 113.53. Той също така е подложен на скрининг за микоплазмена контаминация. И двете среди, CHANG Medium B Basal и CHANG Medium C Supplement, са стерилизирани чрез филтрация през филтър от 0,1 микрона. Представителни проби от CHANG Medium B Basal и CHANG Medium C Supplement са тествани за възможна бактериологична контаминация съгласно протокола за тестване за стерилност, описан в актуалния тест за стерилност по USP (Фармакопейта на САЩ) <71>.

### ПОДГОТОВКА ЗА УПОТРЕБА

#### Лиофилизиран суплемент

1. Оставете лиофилизирания суплемент CHANG Medium C да се еквилибрира на стайна температура.
2. Чрез асептичен метод добавете 10 ml или 50 ml стерилна дестилирана вода към лиофилизата.

Флаконът от 10 ml е за 90 ml CHANG Medium B Basal; флаконът от 50 ml е за 450 ml CHANG Medium B Basal.

3. Разклатете с кръгови движения флакона, за да постигнете пълн разтвор. (ЗАБЕЛЕЖКА: Може да е необходимо да инкубирате флакона при 37° C за 5 до 10 минути, за се разтвори напълно суплементът).
4. Асептично прехвърлете цялото съдържание на реконституирания CHANG Medium C Supplement в бутилката на CHANG Medium B Basal.
5. Смесете добре пълната среда CHANG Medium C, като разклатите с кръгови движения бутилката.
6. Добавете L-глутамин, 10,0 ml/l (200 mM). По желание могат да бъдат добавени антибиотици.

#### Замразен суплемент

1. Размразете замразения суплемент CHANG Medium C бързо, като разклащате с кръгови движения флакона във водна баня с температура 37° C.
2. Асептично прехвърлете цялото съдържание на размразения CHANG Medium C Supplement в бутилката на CHANG Medium B Basal.
3. Смесете добре пълната среда CHANG Medium C, като разклатите с кръгови движения бутилката.
4. Добавете L-глутамин, 10,0 ml/l (200 mM). По желание могат да бъдат добавени антибиотици.

### АЛИКВОТИРАНЕ НА CHANG MEDIUM C SUPPLEMENT

#### Лиофилизиран суплемент

Ако не можете да използвате цялото количество CHANG Medium C в рамките на 10 дни, може да пригответе по-малки количества, като следвате тази модифицирана процедура:

1. Реконституирайте лиофилизирания суплемент CHANG Medium C.
2. Разпределете асептично в аликвотни части с подходящ обем и замразете.
3. Също асептично разпределете CHANG Medium B Basal в съответния брой аликвотни части.
4. За да пригответе пълната среда CHANG Medium C, добавете една аликвотна част размразен CHANG Medium C Supplement към една аликвотна част CHANG Medium B Basal.
5. Смесете добре.

#### Замразен суплемент

1. Размразете замразения суплемент CHANG Medium C.
2. Разпределете асептично в аликвотни части с подходящ обем и замразете отново. (ЗАБЕЛЕЖКА: Флаконът със суплемент съдържа 14 ml или 70 ml. Разпределете по равно.)
3. Също асептично разпределете CHANG Medium B Basal в съответния брой аликвотни части.
4. За да пригответе пълната среда CHANG Medium C, добавете една аликвотна част размразен CHANG Medium C Supplement към една аликвотна част CHANG Medium B Basal.
5. Смесете добре.

#### УКАЗАНИЯ ЗА УПОТРЕБА

НИВОТО НА рН НА СРЕДАТА, ИЗПОЛЗВАНА ЗА ХРАНЕНЕ НА КУЛТУРИТЕ, ТРЯБВА ДА Е МЕЖДУ 6,8 и 7,2 (т.е. средата трябва да е с леко жълтеникаво-оранжево-оранжево цвят). Ниво на рН може лесно да се регулира чрез поставяне на средата в 5% – 8% CO<sub>2</sub> инкубатор с леко разхлабена капачка. Окончателното рН ниво трябва да е 6,8 – 7,2.

За допълнителни подробности относно използването на тези продукти всяка лаборатория трябва да направи справка със своите собствени лабораторни процедури и протоколи, които са конкретно разработени и оптимизирани за Вашата индивидуална медицинска програма.

### Използване на CHANG Medium C 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 C 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% CO<sub>2</sub> атмосфера.
4. В ден 2 залеете културите, като добавите 2 ml CHANG Medium C.
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 C. 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 C в деня преди събирането.

### Използване на CHANG Medium C 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 C за общ обем от 5 ml на слайд-флакон.
3. Инкубирайте културите в покой при 37° C, 5% CO<sub>2</sub> атмосфера.
4. Проверете за растеж в ден 5. Сменете средата с прясна CHANG Medium C и съберете, ако се наблюдава достатъчен растеж на клетките.
5. Проверявайте културите за растеж и сменяйте изцяло средата на всеки втори 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 C в деня преди събирането.

ЗАБЕЛЕЖКА: За затворени системи промиите всеки слайд-флакон с култури с 5% CO<sub>2</sub> – 95% въздух за 20 секунди. Затегнете капачките на слайд-флаконите с култури и ги инкубирайте при 37° C. (Препоръчва се да се прикрепят стерилна запушена пипета тип Пастър към източника на CO<sub>2</sub>, за да се осигури стерилност на входящия газ.)

### Използване на CHANG Medium C 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 C, 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.

### СЪХРАНЕНИЕ И СТАБИЛНОСТ

Съхранявайте замразения суплемент CHANG Medium C при температура под -10° C, лиофилизирания суплемент CHANG Medium C при температура от 2° C до 8° C, CHANG Medium B Basal при температура от 2° C до 8° C и пълната среда CHANG Medium C при температура от 2° C до 8° C. CHANG Medium B Basal не трябва да се замразява.

Пазете от флуоресцентна светлина.

Вижте етикетите на индивидуалните бутилки с компоненти за конкретните срокове на годност. Пълната среда CHANG Medium C може да се съхранява при температура от 2° C до 8° C за 10 дни преди употреба, без това да засегне нейната функционалност. Съхраняване за период, по-дълъг от 10 дни, не се препоръчва.

НЕ ЗАПРАМЯВАЙТЕ ПЪЛНАТА СРЕДА CHANG MEDIUM C.

### 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 компонентите на CHANG Medium C след изтичане на срока на годност, посочен на индивидуалните етикети.

## INDIKACIJE ZA UPOTREBU

CHANG Medium C 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 OTVORENIM (KULTURE URAVNOTEŽENE ATMOSFEROM OD 5 % CO<sub>2</sub>) I ZATVORENIM SUSTAVIMA KULTURA (KULTURE NATOPLJENE S 5 % CO<sub>2</sub> I INKUBIRANE U ČVRSTO ZATVORENIM POSUDAMA).

## OPIS PROIZVODA

CHANG Medium C razvijen je za uzgoj primarne kulture stanica ljudske amnijske tekućine u svrhu kariotipizacije i drugih prenatalnih genetskih testiranja. OVA FORMULA OPTIMIRANA JE ZA OTVORENE I ZATVORENE SUSTAVE.

## KOMPONENTE

<u>Soli i ioni</u>	<u>Proteini, hormoni i čimbenici rasta</u>	<u>pH indikator</u>
Natrijev klorid	Fetalni goveđi serum (FBS)	Fenol crveno
Natrijev selenit	Serum novorođene teladi	<u>Vitamini i elementi u tragovima</u>
Kalcijev klorid	Humani transferin	Askorbinska kiselina
Kolinijev klorid	Fibroblastni	Folna kiselina
Kalijev klorid	čimbenik rasta (FGF)	Nikotinamid
Kalijev fosfat	Inzulin	Riboflavin
Magnezijev klorid	Progesteron	Tijamin
Magnezijev sulfat	Testosteron	Pantotenska kiselina
Natrijev fosfat	Beta estradiol	Kobalamin
Željezov sulfat	Hidrokortizon	Piridoksal
Bakrov sulfat	<u>Voda</u>	Piridoksin
Cinkov sulfat	Kvaliteta u skladu s propisom za vodu za injekcije	
<u>Pufer</u>	<u>Ostalo</u>	
Natrijev	Hipoksantin	
hidrogenkarbonat	Biotin	
<u>Aminokiseline</u>	Putrescin	
Alanin	Etilni alkohol	
Arginin	<u>Antioksidansi</u>	
Asparagin	Lipoična kiselina	
Aspartatna kiselina	<u>Nukleinske kiseline</u>	
Cistein	Deoksiadenozin	
Cistin	Deoksicitidin	
Glutamatna kiselina	Adenozin	
Glutamin	Citidin	
Glicin	Gvanozin	
Histidin	Timidin	
Izoleucin	Uridin	
Leucin	<u>Energetski supstrati</u>	
Lizin	Glukoza	
Metionin	Piruvat	
Fenilalanin	Inozitol	
Prolin		
Serin		
Treonin		
Triptofan		
Tirozin		
Valin		

## OSIGURANJE KVALITETE

### STERILNOST

Serum koji se koristi za proizvodnju proizvoda CHANG Medium C Supplement 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 kontaminaciju mikoplazmom. Proizvodi CHANG Medium B Basal i CHANG Medium C Supplement sterilizirani su filtracijom kroz filter od 0,1 mikron. Ogleđni uzorci proizvoda CHANG Medium B Basal i CHANG Medium C Supplement 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

#### Liofilizirani dodatak

1. Omogućiti proizvodu CHANG Medium C Lyophilized Supplement da postigne sobnu temperaturu.
2. Primjenjujući aseptičke metode dodati 10 ml ili 50 ml sterilne destilirane vode u liofilizat. Bočica od 10 ml namijenjena je za 90 ml proizvoda CHANG Medium B Basal; bočica od 50 ml namijenjena je za 450 ml proizvoda CHANG Medium B Basal.

3. Lagano promućkati kako biste dobili cjelokupnu otopinu. (NAPOMENA: možda će biti potrebno inkubirati bočicu 5 do 10 minuta na 37 °C kako bi se dodatak u potpunosti otopio.)
4. Aseptički prenijeti čitav sadržaj rekonstituiranog proizvoda CHANG Medium C Supplement u bocu proizvoda CHANG Medium B Basal.
5. Promućkati bocu kako biste dobro izmiješali cjelokupan proizvod CHANG Medium C.
6. Dodati L-glutamin, 10,0 ml/l (200 mmol/l). Po želji se mogu dodati antibiotici.

#### Zamrznuti dodatak

1. Brzo odmrznuti proizvod CHANG Medium C Frozen Supplement mučkajući bočicu u vodenoj kupelji temperiranoj na 37 °C.
2. Aseptički prenijeti čitav sadržaj odmrznutog proizvoda CHANG Medium C Supplement u bocu proizvoda CHANG Medium B Basal.
3. Promućkati bocu kako biste dobro izmiješali cjelokupan proizvod CHANG Medium C.
4. Dodati L-glutamin, 10,0 ml/l (200 mmol/l). Po želji se mogu dodati antibiotici.

## ALIKVOTIRANJE PROIZVODA CHANG MEDIUM C SUPPLEMENT

### Liofilizirani dodatak

Ako ne možete iskoristiti cjelokupan CHANG Medium C u roku od 10 dana, možete izraditi manje količine slijedeći izmijenjeni postupak naveden u nastavku:

1. Rekonstituirati CHANG Medium C Lyophilized Supplement.
2. Aseptički raspodijeliti u alikvot odgovarajućih veličina i zamrznuti.
3. Aseptički raspodijeliti CHANG Medium B Basal u odgovarajući broj alikvota.
4. Kako biste pripremili cjelokupan CHANG Medium C, dodati jedan alikvot odmrznutog proizvoda CHANG Medium C Supplement jednom alikvotu proizvoda CHANG Medium B Basal.
5. Dobro izmiješati.

### Zamrznuti dodatak

1. Odmrznuti CHANG Medium C Frozen Supplement.
2. Aseptički raspodijeliti u alikvot odgovarajućih veličina i ponovno zamrznuti. (NAPOMENA: bočica dodatka sadrži 14 ml ili 70 ml. Ravnomjerno raspodijeliti.)
3. Aseptički raspodijeliti CHANG Medium B Basal u odgovarajući broj alikvota.
4. Kako biste pripremili cjelokupan CHANG Medium C, dodati jedan alikvot odmrznutog proizvoda CHANG Medium C Supplement jednom alikvotu proizvoda CHANG Medium B Basal.
5. Dobro izmiješati.

## UPUTE ZA UPOTREBU

pH VRIJEDNOST MEDIJA KOJI SE KORISTI ZA HRANJENJE KULTURA MORA BITI IZMEĐU 6,8 I 7,2 (tj. medij mora biti žućkasto-ružičaste boje). pH se može jednostavno prilagoditi postavljanjem medija u inkubator s 5 % – 8 % CO<sub>2</sub> u posudi s lagano odvrnutim poklopcem. Završna pH vrijednost mora biti 6,8 – 7,2.

Dodatne pojedinosti o upotrebi ovih proizvoda svaki laboratorij treba potražiti u svojim laboratorijskim postupcima i protokolima koji su posebno razvijeni i optimirani za medicinski program upravo tog laboratorija.

### Upotreba proizvoda CHANG Medium C 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 C 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 % CO<sub>2</sub>.

4. Drugi dan natopiti kulture dodavanjem 2 ml proizvoda CHANG Medium C.
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 C. 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 C dan prije prikupljanja.

### Upotreba proizvoda CHANG Medium C za primarne kulture: metode u tikvici

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 C kako bi se postigao ukupan volumen od 5 ml po tikvici.
3. Neometano inkubirati kulture pri 37 °C u atmosferi s 5 % CO<sub>2</sub>.
4. Peti dan provjeriti rast kultura. Zamijeniti medij svježim proizvodom CHANG Medium C i prikupiti kulture ako je zabilježen dovoljan rast stanica.
5. Nakon toga svaki drugi 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 C dan prije prikupljanja.

NAPOMENA: za zatvorene sustave – ispirati svaku tikvicu kulture s 5 % CO<sub>2</sub> – 95 % zraka 20 sekundi. Pritegnuti čepove na tikvicama kultura i inkubirati ih pri 37 °C. (Preporučuje se da se na izvor CO<sub>2</sub> pričvrsti sterilna začepljena Pasteurova pipeta kako bi se osigurala sterilnost ulaznog plina.)

### Upotreba proizvoda CHANG Medium C 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 C 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.

### POHRANA I STABILNOST

Proizvod CHANG Medium C Frozen Supplement pohranjivati na temperaturama nižim od -10 °C, CHANG Medium C Lyophilized Supplement na 2 °C – 8 °C, CHANG Medium B Basal na 2 °C – 8 °C, a cjelokupan CHANG Medium C na 2 °C – 8 °C. Proizvod CHANG Medium B Basal ne smije se zamrzavati.

Zaštiti od fluorescentnog svjetla.

Rokove valjanosti pojedinačnih komponenti potražite na oznakama na bocama tih komponenti. Cjelokupan CHANG Medium C može se pohranjivati na 2 °C – 8 °C 10 dana prije upotrebe i to neće utjecati na funkcionalnost proizvoda. Ne preporučuje se pohranjivati ga duže od 10 dana.

NE ZAMRZAVATI CJELOKUPAN CHANG MEDIUM C.

### 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 komponente proizvoda CHANG Medium C nakon isteka roka valjanosti navedenog na oznakama pojedinačnih komponenti.

## MALTI

### INDIKAZZJONI GHALL-UŻU

CHANG Medium C jista' jintuza għall-applikazzjonijiet li ġejjin:

1. il-kultura primarja ta' ċelloli tal-fluwidu amnijotiku
2. it-tkabbir ta' ċelloli sottokultivati tal-fluwidu amnijotiku
3. il-kultura a' ċelloli tal-mudullun
4. tessuti amnijotiku solidi minn kampjuni ta' villi korjonici.

DAN IL-MEDIUM ĠIE DDISINJAT GHALL-UŻU KEMM F'SISTEMI MIFTUHA (KULTURI EKWILIBRATI B'ATMOSFERA TA' 5% CO<sub>2</sub>) KIF UKOLL MAGĦLUQA (KULTURI MGHARRQA B' 5% CO<sub>2</sub> U INKUBATI BL-GHOTJIN TAL-KONTENITURI TAL-KULTURI MAGĦLUQIN SEW).

### DESKRIZZJONI TAL-APPARAT

CHANG Medium C ġie żviluppjat għall-kultura primarja ta' ċelloli tal-fluwidu amnijotiku u man għall-użu fid-determinazzjoni tal-karjotip u testijiet ġenetiċi oħra ta' qabel it-twelid. DIN IL-FORMULA ĠIET OTTIMIZZATA KEMM GĦAL SISTEMI MIFTUHA KIF UKOLL MAGĦLUQA.

### KOMPONENTI

Imluha u Joni	Proteini, Ormoni u Fatturi ta' Tkabbir	Indikatur tal-pH
Sodium Chloride	Fetal bovine serum (FBS)	Phenol Red
Sodium Selenite	Serum ta' bovin	Vitami u mikroelementi
Calcium Chloride	tat-twelid	Ascorbic acid
Choline Chloride	Transferrin uman	Folic acid
Potassium Chloride	Fattur ta' tkabbir tal-fibroblast (FGF)	Nicotinamide
Potassium	Insulina	Riboflavin
Phosphate	Progesterone	Thiamine
Magnesium Chloride	Testosterone	Pantothenic acid
Magnesium Sulfate	Beta estradiol	Cobalamin
Sodium Phosphate	Hydrocortisone	Pyridoxal
Ferrous Sulfate	Ilma	Pyridoxine
Cupric Sulfate	Sodium Bicarbonate	
Zinc Sulfate	Kwalità tal-WFI (Ilma għall-injezzjonijiet)	
Bafer	Alanine	
Sodium Bicarbonate	Arginine	
Amino Acids	Asparagine	
Alanine	Aspartic Acid	
Arginine	Cysteine	
Asparagine	Cystine	
Aspartic Acid	Glutamic Acid	
Cysteine	Glutamine	
Cystine	Glycine	
Glutamic Acid	Histidine	
Glutamine	Isoleucine	
Glycine	Leucine	
Histidine	Lysine	
Isoleucine	Methionine	
Leucine	Phenylalanine	
Lysine	Proline	
Methionine	Serine	
Phenylalanine	Threonine	
Proline	Tryptophan	
Serine	Tyrosine	
Threonine	Valine	
Tryptophan		
Tyrosine		
Valine		

### ASSIGURAZZJONI TAL-KWALITÀ

#### STERILITÀ

Serum użat fil-produzzjoni ta' CHANG Medium C Supplement ġie ttestjat għall-kontaminazzjoni minn virus skont CFR Titolu 9 Taqsima 113.53. Ġie skrinjat ukoll għall-kontaminazzjoni minn mikoplasma. Kemm CHANG Medium B Basal u CHANG Medium C Supplement jiġu sterilizzati permezz ta' filtrazzjoni minn ġo filtru ta' daqs 0.1 mikron. Kampjuni rappreżentattivi ta' CHANG Medium B Basal u CHANG Medium C Supplement huma ttestjati għall-possibbiltà ta' kontaminazzjoni batterjoloġika skont il-protokoll ta' ttestjar għall-isterilità deskritt fit-test attwali tal-USP għall-isterilità <71>.

### PREPARAZZJONI GHALL-UŻU

#### Suppliment Lijofilizzat

1. Halli li CHANG Medium C Lyophilized Supplement jekwilibra mat-temperatura ambjentali.
2. Bl-użu ta' teknici aseptiċi, žid 10 mL jew 50 L ta' ilma distillat sterili mal-ljofilizzat. Il-kunnett ta' 10 mL huwa għal 90 mL ta' CHANG Medium B Basal; il-kunnett ta' 50 mL huwa għal 450 mL ta' CHANG Medium B Basal.

3. Dawwar il-kunnett bil-mod sakemm is-soluzzjoni tkun kompluta. (NOTA: Jista' jkun mehtieg li l-kunnett jiġi inkubat f'temperatura ta' 37°C għal 5 sa 10 minuti sabiex is-suppliment jinħall kompletament).
4. Ilttrasferi b'mod aseptiku l-kontenut sħiħ tač-CHANG Medium C Supplement rikostitwit għall-flixkun tač-CHANG Medium B Basal.
5. Flawwad sew ič-CHANG Medium C komplet billi ddawwar il-flixkun.
6. Žid L-Glutamine, 10.0 mL/L (200 mM). Jistgħu jiżdiedu l-antibijotiċi jekk ikun mixtieq.

#### Suppliment Iffrizjat

1. HOLL CHANG Medium C Frozen Supplement malajr billi ddawwar il-kunnett f'banjumarja f'temperatura ta' 37°C.
2. Ilttrasferi b'mod aseptiku l-kontenut sħiħ maħlul ta' CHANG Medium C Supplement għall-flixkun ta' CHANG Medium B Basal.
3. Flawwad sew ič-CHANG Medium C komplet billi ddawwar il-flixkun.
4. Žid L-Glutamine, 10.0 mL/L (200 mM). Jistgħu jiżdiedu l-antibijotiċi jekk ikun mixtieq.

### IL-PREPARAZZJONI TA' ALIKWOTI TA'

#### CHANG Medium C SUPPLEMENT

##### Suppliment Lijofilizzat

Jekk ma tkunx tista' tuza CHANG Medium C komplet fi żmien 10 ijiem forsi tkun tixtieq tipprepara ammonti iżgħar billi ssegwi din il-modifikazzjoni tal-proċedura:

1. Irrikostitwixxi CHANG Medium C Lyophilized Supplement.
2. Qassam b'mod aseptiku f'alikwoti ta' daqs konvenjenti u ffriza.
3. B'mod aseptiku wkoll iddispensa č-CHANG Medium B Basal f'numru korrispondenti ta' alikwoti.
4. Sabiex tipprepara CHANG Medium C komplut, žid alikwota waħda ta' CHANG Medium C Supplement wara li tinħall ma' alikwota waħda ta' CHANG Medium B Basal.
5. Flawwad sew.

##### Suppliment Iffrizjat

1. HOLL CHANG Medium C Frozen Supplement.
2. Qassam b'mod aseptiku f'alikwoti ta' daqs konvenjenti u erga' ffriza. (NOTA: Il-kunnett tas-suppliment fih 14 mL jew 70 mL. Qassam b'mod ugwali.)
3. B'mod aseptiku wkoll iddispensa č-CHANG Medium B Basal f'numru korrispondenti ta' alikwoti.
4. Sabiex tipprepara CHANG Medium C komplut, žid alikwota waħda ta' CHANG Medium C Supplement wara li tinħall ma' alikwota waħda ta' CHANG Medium B Basal.
5. Flawwad sew.

### ISTRUZZJONIJET DWAR L-UŻU

IL-pH TAL-MEDIUM UŻAT BIEX JITMA' L-KULTURI JRID IKUN BEJN 6.8-7.2 (jiġifieri l-medium irid ikun ta' kulur fit safrani-fis-salamun). Il-pH jista' jiġi aġġustat b'mod hafif billi tpoġġi l-medium ġo inkubatur ta' 5% - 8% CO<sub>2</sub> bit-tapp ffit maħlul.

Il-pH finali jrid ikun bejn 6.8-7.2.

Għal dettalji addizzjonali dwar l-użu ta' dawn il-prodotti, kull laboratorju għandu jikkonsulta l-proċeduri u l-protokoll tal-laboratorju tiegħu stess li ġew żviluppjati u ottimizzati speċifikament għall-programm mediku individwali tiegħek.

### L-UŻU TA' CHANG Medium C għal Kulturi Primarji: Metodoloġiji In Situ

1. Ičcentrifuga l-fluwidu amnijotiku f'velocità baxxa biex tikkoncentra č-čelloli.
2. Erga' ssuspendi l-gerbuba tač-čelloli f'volum žgħir tal-fluwidu amnijotiku tal-pazjent stess. Pereżempju, aspira s-supernate ta' 10 mL tal-fluwidu amnijotiku čcentrifugat sa 0.5 mL 'l fuq mill-gerbuba tač-čelloli u erga' ssuspendi. Žid ammont suffiċjenti ta' CHANG Medium C lis-sospensjoni tač-čelloli kkoncentrati sabiex ikun hemm il-volum finali għall-plakkatura ta' 0.5 mL għal kull cover slip (total ta' 4 kopertini) jew 2 mL għal kull flasketta.
3. Inkuba l-kulturi mingħajr čaqliq f'temperatura ta' 37°C f'atmosfera ta' 5% CO<sub>2</sub>.
4. Għarraq il-kulturi fit-tieni (2) jum billi žżid 2 mL ta' CHANG Medium C.

5. Wara 4 jew 5 ijiem, għandu jiġi ččekkjat kemm kibru l-kulturi. Il-kulturi għandhom jiġu misqija malli jiġi osservat li bdew jkbru. Isqj l-kulturi billi tneħħi s-supernatant kollu tal-kultura u tbiddu b'2 mL ta' CHANG Medium C frisk. Huwa rrakkomandat li mbagħad il-kulturi jiġu misqijin kull jumejn.
6. Iččekkja kemm kibru l-kulturi fil-jew wara 1-5 jum meta jiġi osservat numru suffiċjenti ta' kolonji.
7. Jinkisbu l-aħjar riżultati meta l-kulturi jiġu misqijin bič-CHANG Medium C fil-jum ta' qabel il-ħsad.

### L-UŻU TA' CHANG Medium C għal Kulturi Primarji: Metodoloġiji fil-Flask

1. Ičcentrifuga l-fluwidu amnijotiku f'velocità baxxa biex tikkoncentra č-čelloli.
2. Erga' ssuspendi l-gerbuba tač-čelloli f'volum žgħir tal-fluwidu amnijotiku tal-pazjent stess. Pereżempju, aspira s-supernate ta' 10 mL tal-fluwidu amnijotiku čcentrifugat sa 1 mL 'l fuq mill-gerbuba tač-čelloli u erga' ssuspendi. Žid 4 mL ta' CHANG Medium C għal volum totali ta' 5 mL għal kull flask.
3. Inkuba l-kulturi mingħajr čaqliq f'temperatura ta' 37°C f'atmosfera ta' 5% CO<sub>2</sub>.
4. Fil-5 jum iččekkja kemm kibru. Biddel il-medium b'CHANG Medium C frisk u aħsad jekk jiġi osservat tkabbir suffiċjenti ta' čelloli.
5. Iččekkja kemm kibru l-kulturi u mbagħad biddel il-medium kompletament darba iva u darba le sakemm jiġi osservat numru suffiċjenti ta' kolonji u jkunu lesti għall-ħsad.
6. Jinkisbu l-aħjar riżultati meta l-kulturi jiġu misqijin bič-CHANG Medium C fil-jum ta' qabel il-ħsad.

NOTA: Għal sistemi magħluqa, laħlaħ kull flask tal-kultura b'5% CO<sub>2</sub> - 95% arja għal 20 sekonda. Issikka l-ghotjin tal-flasks tal-kulturi u inkubhom f'temperatura ta' 37°C. (Huwa rrakkomandat li titwahhal pipetta Pasteur sterili u magħluqa b'tapp mas-sors tal-CO<sub>2</sub> sabiex tiġi žgurata l-isterilità tal-gass li jkun diehel.)

### L-UŻU TA' CHANG Medium C għat-Tkabbir ta' Čelloli Sottokultivati tal-Fluwidu Amnijotiku:

Għas-sottokultivazzjoni tač-čelloli, ittratta l-kulturi bitrypsin (jew pronase, ečč) bħalma jsir normalment meta č-čelloli jtkabbru f'medium konvenzjonali. Madankollu, it-trattament bil-protease għandu jiġi mmonitorjat birreqqa. Čelloli tal-fluwidu amnijotiku mkabbra f'CHANG Medium C għandhom tendenza li jkunu iktar sensittivi għat-trattament bil-protease minn čelloli tal-fluwidu amnijotiku mkabbra f'medium konvenzjonali. Jista' jkun mehtieg li l-protokoll tiegħek jiġi mmodifikat sabiex jittiehed akkont ta' dan.

### HAŻNA U STABBILTÀ

Aħżen CHANG Medium C Frozen Supplement f'temperatura ta' inqas minn -10°C, CHANG Medium C Lyophilized Supplement f'temperatura ta' 2°C sa 8°C, CHANG Medium B Basal f'temperatura ta' 2°C sa 8°C, u CHANG Medium C komplut f'temperatura ta' 2°C sa 8°C. CHANG Medium B Basal m'għandux jiġi ffrizat.

Ipproteġi minn dawl fluworexenti.

Ara t-tikketti fuq il-flixken komponenti individwali għadati ta' skadenza speċifiċi. CHANG Medium C komplut jista' jinżamm f'temperatura ta' 2°C sa 8°C għal 10 ijiem qabel jintuza mingħajr ma tiġi affettwata l-funzjoni tiegħu. Mhux irrakkomandat li jinħażen għal iktar minn 10 ijiem.

### TIFFRIZAX CHANG MEDIUM C.KOMPLUT

#### PREKAWZZJONIJET U TWISSIJET

Dan l-apparat huwa maħsub għall-użu minn personal imħarġ f'proċeduri li jinkludu l-applikazzjoni indikata li għaliha huwa maħsub l-apparat.

Tużax il-komponenti ta' CHANG Medium C.wara d-data ta' skadenza indikata fuq it-tikketti individwali.



**INDIKACIJE ZA UPORABO**

Medij CHANG Medium C se lahko uporablja za naslednje aplikacije:

1. primarna kultura celic amnijske tekočine,
2. gojene pasażirane celice amnijske tekočine,
3. kultura celic kostnega mozga,
4. trdno amnijsko tkivo iz vzorcev horionskih resic.

TA MEDIJ JE ZASNOVAN ZA UPORABO V ODPRTIH (KULTURE, URAVNOTEŽENE V ATMOSFERI S 5 % CO<sub>2</sub>) IN ZAPRTIH SISTEMIH ZA GOJENJE KULTUR (KULTURE S 5 % CO<sub>2</sub> IN INKUBIRANE V TRDNO ZAPRTIH POSODAH).

**OPIS PRIPOMOČKA**

Medij CHANG Medium C je razvit za primarno kulturo humanih celic amnijske tekočine za uporabo pri določanju kariotipa in drugih antenatalnih genskih testih. TA FORMULA JE OPTIMIZIRANA ZA ODPRTE IN ZAPRTE SISTEME.

**KOMPONENTE**

<u>Soli in ioni</u>	<u>Beljakovine,</u>	<u>Indikator</u>
Natrijev klorid	<u>hormoni in</u>	<u> vrednosti pH</u>
Natrijev selenit	<u>rastni faktorji</u>	Fenol rdeče
Kalcijev klorid	Serum govejega	<u>Vitaminski in</u>
Holin klorid	zarodka (FBS)	<u>elementi v sledovih</u>
Kalijev klorid	Serum	Askorbinska kislina
Kalijev fosfat	novorojenega teleta	Folna kislina
Magnezijev klorid	Humani transferin	Nikotinamid
Magnezijev sulfat	Fibroblastni rastni	Riboflavin
Natrijev fosfat	faktor (FGF)	Tiamin
Železov sulfat	Inzulini	Pantotenska kislina
Bakrov sulfat	Progesteron	Kobalamin
Cinkov sulfat	Testosteron	Piridoksal
<u>Pufer</u>	Beta-estradiol	Piridoksin
Natrijev bikarbonat	Hidrokortizon	
<u>Aminokisliline</u>	<u>Voda</u>	
Alanin	Kakovost, ki ustreza	
Arginin	vodi za injekcije	
Asparagin	<u>Drugo</u>	
Asparaginska kislina	Hipoksantin	
Cistein	Biotin	
Cistin	Putrescin	
Glutaminska kislina	Etilni alkohol	
Glutamin	<u>Antioksidant</u>	
Glicin	Tioktična kislina	
Histidin	<u>Nukleinske kisline</u>	
Izolevcin	Deoksiadenozin	
Levcin	Deoksicitidin	
Lizin	Deoksigvanozin	
Metionin	Adenozin	
Fenilalanin	Citidin	
Prolin	Gvanozin	
Serin	Timidin	
Treonin	Uridin	
Triptofan	<u>Energijski substrati</u>	
Tirozin	Glukoza	
Valin	Piruvat	
	Inozitol	

**ZAGOTAVLJANJE KAKOVOSTI****STERILNOST**

Serum, uporabljen pri proizvodnji medija CHANG Medium C Supplement, je testiran za virusno kontaminacijo po standardu CFR, naslov 9, del 113.53. Testiran je tudi glede mikoplazemske kontaminacije. Medija CHANG Medium B Basal in CHANG Medium C Supplement sta sterilizirana s filtracijo skozi 0,1-mikronski filter. Reprezentativni vzorci medijev CHANG Medium B Basal in CHANG Medium C Supplement so testirani za morebitno bakteriološko kontaminacijo po protokolu za testiranje sterilnosti, opisanem v trenutni USP za testiranje sterilnosti <71>.

**PRIPRAVA ZA UPORABO****Liofiliziran dodatek**

1. Počakajte, da medij CHANG Medium C liofiliziran dodatek doseže sobno temperaturo.
2. Z aseptično tehniko liofilizatu dodajte 10 ml ali 50 ml sterilne destilirane vode. 10 ml viala je za 90 ml medija CHANG Medium B Basal; 50 ml viala je za 450 ml medija CHANG Medium B Basal.
3. Vialo nežno sukajte, da se vsebina popolnoma raztopi. (OPOMBA: Morda bo treba vialo inkubirati pri 37 °C od 5 do 10 minut, da se dodatek popolnoma raztopi).

4. Aseptično prenesite celotno vsebino rekonstituiranega medija CHANG Medium C Supplement v steklenico z medijem CHANG Medium B Basal.
5. S sukanjem steklenice temeljito zmešajte celoviti medij CHANG Medium C.
6. Dodajte L-glutamin, 10,0 ml/l (200 mM). Po želji lahko dodate antibiotike.

**Zamrznjen dodatek**

1. Hitro odtalite medij CHANG Medium C zamrznjen dodatek tako, da sukate vialo v vodni kopeli s temperaturo 37 °C.
2. Aseptično prenesite celotno vsebino odtaljenega medija CHANG Medium C Supplement v steklenico z medijem CHANG Medium B Basal.
3. S sukanjem steklenice temeljito zmešajte celoviti medij CHANG Medium C.
4. Dodajte L-glutamin, 10,0 ml/l (200 mM). Po želji lahko dodate antibiotike.

**ALIKVOTIRANJE MEDIJA CHANG****MEDIUM C SUPPLEMENT****Liofiliziran dodatek**

Če v 10 dneh ne morete porabiti celovitega medija CHANG Medium C, boste morda želeli s tem spremenjenim postopkom pripraviti manjše količine:

1. Rekonstituirajte medij CHANG Medium C liofiliziran dodatek.
2. Aseptično ga porazdelite na alikvotne primerne velikosti in zamrznite.
3. Tudi medij CHANG Medium B Basal aseptično razdelite na ustrezno število alikvotov.
4. Celovit medij CHANG Medium C pripravite tako, da en alikvot odtaljenega medija CHANG Medium C Supplement dodate enemu alikvotu medija CHANG Medium B Basal.
5. Dobro premešajte.

**Zamrznjen dodatek**

1. Odtalite medij CHANG Medium C zamrznjen dodatek.
2. Z aseptično tehniko ga porazdelite na alikvotne primerne velikosti in ponovno zamrznite. (OPOMBA: Viala z dodatkom vsebuje 14 ml ali 70 ml. Vsebinsko enakomerno porazdelite.)
3. Tudi medij CHANG Medium B Basal aseptično razdelite na ustrezno število alikvotov.
4. Celovit medij CHANG Medium C pripravite tako, da en alikvot odtaljenega medija CHANG Medium C Supplement dodate enemu alikvotu medija CHANG Medium B Basal.
5. Dobro premešajte.

**NAVODILA ZA UPORABO**

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 prilagodite tako, da medij postavite v inkubator s 5–8 % CO<sub>2</sub> (pokrovček naj bo nekoliko priprt).

Končni pH mora biti 6,8–7,2.

Dodatne podrobnosti o uporabi teh izdelkov določajo notranji laboratorijski postopki in protokoli vsakega laboratorija, ki so bili posebej razviti in optimizirani za zavedni medicinski program.

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

1. Centrifugirajte amnijsko tekočino pri nizki hitrosti, da koncentrirate celice.
2. 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 C, da dobite končni volumen za prevleko krovnih stekelc 0,5 ml na stekelce (skupaj 4 krovna stekelca) ali 2 ml na stekleničko.
3. Nato se morajo kulture nemoteno inkubirati v atmosferi s 5 % CO<sub>2</sub> pri 37 °C.
4. 2. dan kulture zalijte z 2 ml medija CHANG Medium C.

5. 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 C. Priporočljivo je, da v nadaljevanju kulture nahranite vsaka 2 dni.
6. Na 5. dan ali po 5. dnevu preverite, koliko so kulture zrasle, in jih spravite, ko opazite dovolj kolonij.
7. Rezultat bo najboljši, če kulture nahranite z medijem CHANG Medium C en dan, preden jih spravite.

**Uporaba medija CHANG Medium C za primarne kulture: Metodologije z bučkami**

1. Centrifugirajte amnijsko tekočino pri nizki hitrosti, da koncentrirate celice.
2. 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 C, da dobite celotni volumen 5 ml na bučko.
3. Nato se morajo kulture nemoteno inkubirati v atmosferi s 5 % CO<sub>2</sub> pri 37 °C.
4. Na 5. dan preverite rast. Medij zamenjajte s svežim medijem CHANG Medium C in spravite celice, če opazite zadostno rast.
5. V nadaljevanju vsak drugi dan preverite rast kultur in zamenjajte medij v celoti, dokler ne opazite, da je dovolj kolonij pripravljenih, da jih lahko spravite.
6. Rezultat bo najboljši, če kulture nahranite z medijem CHANG Medium C en dan, preden jih spravite.

OPOMBA: Pri zaprtih sistemih vsako bučko za kulture 20 sekund spirajte s 5 % CO<sub>2</sub> in 95 % zraka. Trdno zaprite pokrovčke bučk za kulture in jih inkubirajte pri 37 °C. (Priporočljivo je, da na dovod CO<sub>2</sub> pritrđite sterilno Pasteurjevo pipeto, ki bo zagotavljala sterilnost dovajane plina.)

**Uporaba medija CHANG Medium C 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 C, so običajno občutljivejše za obdelavo s proteazami kot celice amnijske tekočine, ki so gojene v običajnem mediju. Za upoštevanje tega boste morda morali spremeniti protokol.

**SHRANJEVANJE IN STABILNOST**

Medij CHANG Medium C zamrznjen dodatek shranjujete pri temperaturi pod –10 °C, CHANG Medium C liofiliziran dodatek pri temperaturi med 2 in 8 °C, CHANG Medium B Basal pri temperaturi med 2 in 8 °C ter celovit medij CHANG Medium C pri temperaturi med 2 in 8 °C. Medij CHANG Medium B Basal se ne sme zamrzniti. Zaščitite pred fluorescenčno svetlobo.

Roki uporabnosti so navedeni na nalepkah na steklenicah s posameznimi komponentami. Celovit medij CHANG Medium C lahko pred uporabo shranite pri temperaturi od 2 do 8 °C za 10 dni, ne da bi to vplivalo na njegovo delovanje. Shranjevanje za dlje kot 10 dni ni priporočljivo.

**CELOVITEGA MEDIJA CHANG MEDIUM C NE SMETE ZAMRZNITI.****PREVIDNOSTNI UKREPI IN OPOZORILA**

Ta pripomoček sme uporabljati samo osebe, usposobljene za postopke, ki vključujejo indicirano uporabo, za katero je pripomoček zasnovan. Komponent medija CHANG Medium C ne smete uporabljati po izteku rokov uporabnosti, navedenih na posameznih nalepkah.