

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 -diagnostikkaan.

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 diagnostilliseks kasutamiseks.

In vitro diagnostikאי alkalalmazáshoz.

Skirta *in vitro* diagnostikai.

In vitro diagnostik kullanim için.

Na diagnostické použitie *in vitro*.

За *in vitro* диагностична употреба.

Za upotrebu *in vitro* dijagnostiki.

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 - Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

*Symbol Reference - EN ISO 15223-1, Medical devices - Symbols to be used with medical device labels, labeling.

ENGLISH

INDICATION FOR USE

CHANG Medium 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% CO₂ ATMOSPHERE) AND CLOSED CULTURE SYSTEMS (CULTURES FLOODED WITH 5% CO₂ 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

<u>Salts & Ions</u>	<u>Proteins,</u>	<u>pH Indicator</u>
Sodium Chloride	<u>Hormones, and</u>	Phenol red
Sodium Selenite	<u>Growth Factors</u>	<u>Vitamins and trace</u>
Calcium Chloride	Fetal bovine serum	<u>elements</u>
Choline Chloride	(FBS)	Ascorbic acid
Potassium Chloride	Newborn bovine	Folic acid
Potassium	serum	Riboflavin
Phosphate	Human transferrin	Nicotinamide
Magnesium Chloride	Fibroblast growth	Thiamine
Magnesium Sulfate	factor (FGF)	Pantothenic acid
Sodium Phosphate	Insulin	Cobalamin
Ferrous Sulfate	Progesterone	Pyridoxal
Cupric Sulfate	Testosterone	Pyridoxine
Zinc Sulfate	Beta estradiol	
<u>Buffer</u>	Hydrocortisone	
Sodium Bicarbonate	<u>Water</u>	
<u>Amino Acids</u>	WFI Quality	
Alanine	Other	
Arginine	Hypoxanthine	
Asparagine	Biotin	
Aspartic Acid	Putrescine	
Cysteine	Ethyl alcohol	
Cystine	<u>Antioxidant</u>	
Glutamic Acid	Thioctic acid	
Glutamine	<u>Nucleic acids</u>	
Glycine	Deoxyadenosine	
Histidine	Deoxycytidine	
Isoleucine	Deoxyguanosine	
Leucine	Adenosine	
Lysine	Cytidine	
Methionine	Guanosine	
Phenylalanine	Thymidine	
Proline	Uridine	
Serine	<u>Energy Substrates</u>	
Threonine	Glucose	
Tryptophan	Pyruvate	
Tyrosine	Inositol	
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% CO₂ 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% CO₂ 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% CO₂ 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% CO₂ - 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 CO₂ 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:

- Primärkultur von Fruchtwasserzellen
- Wachsende passagierte Fruchtwasserzellen
- die Kultur von Knochenmarkzellen
- festes Amniongewebe aus einer Chorionzottenbiopsie.

DIESES MEDIUM WURDE FÜR DIE VERWENDUNG IN SOWOHL OFFENEN (IN EINER 5%IGEN CO₂-ATMOSPHERE ÄQUILIBRIERTE KULTUREN) ALS AUCH GESCHLOSSENEN KULTURSYSTEMEN ENTWICKELT (KULTUREN, DIE MIT 5 % CO₂ ÜBERSCHWEMMT UND BEI FEST MIT EINER KAPPE VERSCHLOSSENEN KULTURGEFASSEN 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

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

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.

VERBEREITUNG

Lyophilisierte Ergänzung

- Die lyophilisierte Ergänzung CHANG Medium C auf Raumtemperatur äquilibrieren lassen.
- 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.

- 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.)
- Den gesamten Inhalt des rekonstituierten CHANG Medium C Supplement mit aseptischen Techniken in die Flasche mit CHANG Medium B Basal übertragen.
- Das gesamte CHANG Medium C durch Schwenken der Flasche gut mischen.
- 10,0 ml/ (200 mM) L-Glutamin hinzugeben. Bei Bedarf können Antibiotika hinzugefügt werden.

Gefrorene Ergänzung

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

ALIQOTIEREN 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:

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

Gefrorene Ergänzung

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

GEBRAUCHSANWEISUNG

DER pH-WERT DES MEDIUMS, DAS ALS NAHRMEDIUM 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 CO₂-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

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

- Die Kulturen ungestört bei 37 °C in einer 5%igen CO₂-Atmosphäre inkubieren.
- Die Kulturen an Tag 2 überspülen, indem 2 ml CHANG Medium C zugegeben werden.
- 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.
- An/oder nach Tag 5 die Kulturen auf Wachstum prüfen und entnehmen, wenn ausreichend Kolonien vorhanden sind.
- 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

- Das Fruchtwasser bei geringer Geschwindigkeit zentrifugieren, um Zellen zu konzentrieren.
- 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.
- Die Kulturen ungestört bei 37 °C in einer 5%igen CO₂-Atmosphäre inkubieren.
- An Tag 5 auf Wachstum prüfen. Das Medium durch frisches CHANG Medium C ersetzen und die Kulturen entnehmen, wenn ausreichend Zellwachstum festgestellt wird.
- Die Kulturen auf Wachstum prüfen und danach jeden zweiten Tag das Medium auswechseln, bis ausreichend Kolonien vorhanden sind und entnommen werden können.
- 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 % CO₂ 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 CO₂-Quelle anzubringen, um die Sterilität des einleitenden 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 ENFRIEREN.

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.

ITALIANO

INDICAZIONI PER L'USO

CHANG Medium C può essere usato per le seguenti applicazioni:

- culture primarie di cellule di liquido amniotico;
- culture secondarie di cellule di liquido amniotico;
- culture di cellule di midollo osseo;
- 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 CO₂) CHE IN SISTEMI CHIUSI (COLTURE SOTTO FLUSSO CON IL 5% DI CO₂ E INCUBATE IN SUPPORTI CHIUSI ERMETICAMENTE).

DESCRIZIONE DEL DISPOSITIVO

CHANG Medium C è stato sviluppato per culture 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	Proteine, ormoni e fattori di crescita	Indicatore di pH
Cloruro di sodio	Siero bovino fetale	Rosso fenolo
Selenito di sodio	Siero bovino neonatale	Vitamine ed elementi in tracce
Cloruro di calcio	Transferrina umana	Acido ascorbico
Cloruro di colina	Fattore di crescita dei fibroblasti	Acido folico
Cloruro di potassio	Insulina	Nicotinamide
Fosfato di potassio	Progesterone	Riboflavina
Cloruro di magnesio	Testosterone	Tiamina
Solfato di magnesio	Beta estradiolo	Acido pantotenico
Fosfato di sodio	Idrocortisone	Cobalamina
Solfato di ferro	Acqua	Pridossale
Solfato di rame	Qualità WFI (acqua per iniezioni)	Pridossina
Solfato di zinco	Aminoacidi	
Tampone	Alanina	Altro
Bicarbonato di sodio	Arginina	Ipxoxantina
Aminoacidi	Asparagina	Biotina
Alanina	Acido aspartico	Putrescina
Alanina	Cisteina	Alcol etilico
Arginina	Cistina	Antiossidante
Asparagina	Acido glutammico	Acido tiocico
Acido aspartico	Glutamina	Acidi nucleici
Cisteina	Glicina	Deossiadenosina
Cistina	Istidina	Deossicitidina
Acido glutammico	Isoleucina	Deossiguanosina
Glutamina	Leucina	Adenosina
Glicina	Lisina	Citidina
Istidina	Meltonina	Guanosina
Isoleucina	Fenilalanina	Timidina
Leucina	Prolina	Uridina
Lisina	Serina	Substrati energetici
Meltonina	Teonina	Glucosio
Fenilalanina	Triptofano	Piruvato
Prolina	Tirosina	Inositolio
Serina	Valina	
Teonina		
Triptofano		
Tirosina		
Valina		

GARANZIA DI QUALITÀ

STERILITÀ

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

PREPARAZIONE PER L'USO

Supplemento liofilizzato

- Portare CHANG Medium C supplemento liofilizzato a temperatura ambiente.
- Usando tecniche in asepsi, aggiungere 10 ml o 50 ml di acqua distillata sterile al liofilio. Il flacone da 10 ml deve essere impiegato per CHANG Medium B Basal nel formato da 90 ml, mentre quello da 50 ml per CHANG Medium B Basal nel formato da 450 ml.
- Agitare delicatamente il flacone per rendere omogenea la soluzione. (NOTA: per dissolvere completamente il supplemento, potrebbe essere necessario incubare a 37 °C per 5-10 minuti).

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

Supplemento congelato

- Scongelare rapidamente CHANG Medium C supplemento agitando il flacone in un bagno d'acqua a 37 °C.
- Trasferire in condizioni asettiche l'intero contenuto di CHANG Medium C supplemento scongelato nel flacone di CHANG Medium B Basal.
- Miscelare accuratamente CHANG Medium C completo agitando il flacone.
- Aggiungere L-glutamina, 10,0 ml/ (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 ricostituirne quantità inferiori modificando la procedura come segue:

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

Supplemento congelato

- Scongelare CHANG Medium C supplemento.
- 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.)
- Dispensare, sempre in condizioni asettiche, anche CHANG Medium B Basal in un numero di aliquote corrispondenti.
- Per preparare CHANG Medium C completo, aggiungere un'aliquota di CHANG Medium C supplemento scongelato a un'aliquota di CHANG Medium B Basal.
- 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 CO₂ 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 culture primarie Metodologie in situ

- Centrifugare il liquido amniotico a bassa velocità per concentrare le cellule.
- 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 miniflasca.
- Incubare le culture indisturbate a 37 °C in atmosfera al 5% di CO₂.

- Al giorno 2, aggiungere alle colture 2 ml di CHANG Medium C.
- 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.
- Controllare la crescita delle colture a partire dal giorno 5 e raccogliere quando si osservano sufficienti colonie.
- 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 culture primarie Metodologie in fiasca

- Centrifugare il liquido amniotico a bassa velocità per concentrare le cellule.
- 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.
- Incubare le colture indisturbate a 37 °C in atmosfera al 5% di CO₂.
- Verificare la crescita al giorno 5. Sostituire il terreno con CHANG Medium C fresco e raccogliere se si osserva una crescita cellulare sufficiente.
- Verificare la crescita delle colture: successivamente sostituire completamente il terreno a giorni alterni finché non si osservano colonie sufficienti e pronte per la raccolta.
- 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 CO₂ 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 CO₂ per garantire la sterilità del gas in ingresso).

Uso di CHANG Medium C per culture secondarie di liquido amniotico

Per eseguire culture 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.

ESPAÑOL

INDICACIÓN DE USO

El CHANG Medium C se puede usar para estas

aplicaciones:

- el cultivo primario de células de líquido amniótico
- expansión de células de líquido amniótico subcultivadas
- cultivo de células de la médula ósea
- tejido amniótico sólido (muestreo de velosidades coriónicas).

ESTE MEDIO SE HA DISEÑADO PARA SU USO EN SISTEMAS DE CULTIVO ABIERTOS (CULTIVOS EQUILIBRADOS EN UNA ATMÓSFERA CON UN 5 % DE CO₂) Y CERRADOS (CULTIVOS INUNDADOS CON UN 5 % DE CO₂, E INCUBADOS CON RECIPIENTES DE CULTIVO HÉRMETICAMENTE 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

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

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

- Dejar que el CHANG Medium C Lyophilized Supplement se equilibre a temperatura ambiente.
- 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.
- Agitar el vial con suavidad para su disolución completa. (NOTA: a veces hay que incubar el vial

a 37 °C durante 5 a 10 minutos para disolver completamente el suplemento.)

- Llevar en condiciones asépticas todo el contenido reconstituido del CHANG Medium C Supplement al frasco del CHANG Medium B Basal.
- Mezclar bien por balanceo el frasco del CHANG Medium C completo.
- Añadir L-glutamina, 10,0 ml/l (200 mM). Se pueden añadir antibióticos si se desea.

Suplemento congelado

- Descongelar rápidamente el suplemento congelado del CHANG Medium C mediante balanceo del vial en un baño de agua a 37 °C.
- Llevar en condiciones asépticas todo el contenido descongelado del CHANG Medium C Supplement al frasco de CHANG Medium B Basal.
- Mezclar bien por balanceo el frasco del CHANG Medium C completo.
- 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:

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

Suplemento congelado

- Reconstituir el suplemento congelado del CHANG Medium C.
- 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.)
- Dispensar asimismo en condiciones asépticas el CHANG Medium B Basal en el número correspondiente de alícuotas.
- Para preparar el CHANG Medium C completo, añadir una alícuota del CHANG Medium C Supplement descongelado a una alícuota del CHANG Medium B Basal.
- 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 CO₂. 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*

- Centrifugar el líquido amniótico a baja velocidad para concentrar las células.
- 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 frascoito.

- Incubar los cultivos sin perturbaciones a 37 °C en una atmósfera con 5 % de CO₂.
- Inundar los cultivos el día 2 añadiendo 2 ml del CHANG Medium C.
- Al cabo de 4 a 5 días, se revalorará 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.
- Comprobar el crecimiento de los cultivos a partir del día 5 y cosecharlos cuando se observen suficientes colonias.
- 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

- Centrifugar el líquido amniótico a baja velocidad para concentrar las células.
- 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.
- Incubar los cultivos sin perturbaciones a 37 °C en una atmósfera con 5 % de CO₂.
- 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.
- Para preparar 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.
- 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 CO₂ - 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 CO₂ 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.

FRANÇAIS

INDICATION D’UTILISATION

CHANG Medium C peut être utilisé pour les applications suivantes :

- La culture primaire des cellules du liquide amniotique ;
- Le repiquage des cellules du liquide amniotique ;
- La culture des cellules de la moelle osseuse ;
- La culture des tissus des prélèvements de villosités choriales 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 CO₂) ET FERMÉE (CULTURES INONDEES AVEC 5 % DE CO₂, ET INCUBÉES DANS LES FLACONS FERMÉS HÉRMETIQUEMENT).

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	Indicateur de pH et facteurs de croissance
Chlorure de sodium	Sérum de veau foetal (SVF)	Rouge de phénol
Sélenite de sodium	Sérum de veau foetal (SVF)	Vitamines et oligo-éléments
Clorure de calcio	Sérum de veau naissant	Acide ascorbique
Clorure de choline	Transferrine humaine	Acide folique
Chlorure de potassium	Facteur de croissance des fibroblastes	Nicotinamide
Phosphate de potassium	Facteur de croissance des fibroblastes	Riboflavine
Chlorure de magnésium	Insuline	Thiamine
Sulfate de magnésium	Progesterone	Acide
Phosphate de sodium	Testostérone	panthothénique
Sulfate de fer	Bêta-estradiol	Cobalamine
Sulfate de cuivre	Hydrocortisone	Pyridoxal
Sulfate de zinc	Eau	Pyridoxine
Tampón	Qualité WFI	
Bicarbonato de sodium	Autre	
Acides aminés	Hypoxanthine	
Alanine	Biotine	
Arginine	Putrescine	
Asparagine	Alcool éthylique	
Acide aspartique	Antioxydant	
Cystéine	Acide thiocltique	
Cystine	Acides nucléiques	
Acide glutámico	Desoxyadenosine	
Glutamina	Desoxycytidine	
Glycine	Desoxyguanosine	
Histidine	Adenosine	
Isoleucine	Cytidine	
Leucine	Guanosine	
Lysine	Thymidine	
Méthionine	Uridine	
Phénylalanine	Substrats énergétiques	
Proline	Glucose	
Sérine	Pyruvate	
Thréonine	Inositol	
Tryptophane		
Tyrosine		
Valine		

ASSURANCE QUALITÉ

STERILITE

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 micoplasme. 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

- Permettre au supplément lyophilisé de CHANG Medium C de s'équilibrer à température ambiante.
- 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 a 450 ml de milieu de base de CHANG Medium B.

- 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.)
- Transférer stérilement le contenu complet du supplément de CHANG Medium C reconstitué dans le tube de milieu de base de CHANG Medium B.
- Mélanger bien le milieu complet de CHANG Medium C en agitant le tube.
- Ajouter de la glutamine L (concentration de 10 ml/l, soit 200 mM). Des antibiotiques peuvent également être ajoutés, le cas échéant.

Supplément congelé

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

PRÉPARATION D'ALIUOTES 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 :

- Reconstituer le supplément lyophilisé de CHANG Medium C.
- Répartir stérilement en plusieurs aliquotes de taille appropriée et congeler.
- Repartir stérilement le milieu de base de CHANG Medium B en un nombre égal d'aliquotes.
- 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.
- Bien mélanger.

Supplément congelé

- Décongeler le supplément congelé de CHANG Medium C.
- Repartir stérilement en plusieurs aliquotes de taille appropriée et recongeler. (REMARQUE : le flacon de supplément contient 14 ml ou 70 ml. Répartir équitablement.)
- Repartir stérilement le milieu de base de CHANG Medium B en un nombre égal d'aliquotes.
- 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.
- 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 CO₂ (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*

- Centrifuger le liquide amniotique à faible vitesse pour concentrer les cellules.
- 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.

- Incuber les cultures sans agitation à 37 °C en atmosphère de CO₂ à 5 %.
- Inonder les cultures le deuxième jour en ajoutant 2 ml de CHANG Medium C.
- 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.
- Vérifier la croissance des cultures à partir du cinquième jour et procéder à la collecte lorsque les cultures ont des colonies de taille suffisante.
- 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

- Centrifuger le liquide amniotique à faible vitesse pour concentrer les cellules.
- 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.
- Incuber les cultures sans agitation à 37 °C en atmosphère de CO₂ à 5 %.
- 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.
- 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.
- 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 CO₂ 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 CO₂ 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 tryp sine (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

Conservr 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 CO₂) E SISTEMAS DE CULTURA FECHADOS (CULTURAS INUNDADAS COM 5% DE CO₂ 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

Sais e iões	Proteínas,	Substratos
Cloreto de sódio	<u>hormonas e fatores</u>	<u>energéticos</u>
Selenito de sódio	<u>de crescimento</u>	Glucose
Cloreto de cálcio	Soro bovino fetal	Piruvato
Cloreto de colina	(FBS)	Inositol
Cloreto de potássio	Soro bovino	<u>Indicador de pH</u>
Fosfato de potássio	neonatal	Vermelho de fenol
Cloreto de magnésio	Transferrina	<u>Vitaminas</u>
Sulfato de magnésio	humana	<u>e oligoelementos</u>
Fosfato de sódio	Fator de	Ácido ascórbico
Sulfato ferroso	crescimento dos	Ácido fólico
Sulfato cúprico	fibroblastos (FGF)	Nicotinamida
Sulfato de zinco	Insulina	Riboflavina
<u>Tampão</u>	Progesterona	Tiamina
Bicarbonato de sódio	Testosterona	Ácido pantoténico
<u>Aminoácidos</u>	Beta-estradiol	Cobalamina
Alanina	Hidrocortisona	Pridoxal
Arginina	<u>Água</u>	Pridoxina
Asparagina	Qualidade	
Ácido aspártico	WFI (água p/	
Cisteína	preparações	
Cistina	injetáveis)	
Ácido glutâmico	<u>Outro</u>	
Glutamina	Hipoxantina	
Glicina	Biotina	
Histidina	Putrescina	
Isoleucina	Alcool etílico	
Leucina	<u>Antioxidante</u>	
Lisina	Ácido ióico	
Metionina	<u>Ácidos nucleicos</u>	
Fenilalanina	Desoxiadenosina	
Prolina	Desoxicitidina	
Serina	Desoxiguanosina	
Treonina	Adenosina	
Triptofano	Cilidina	
Tirosina	Guanosina	
Valina	Timidina	
	Uridina	

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 aliquotas de tamanho conveniente e congele.
3. Dispense igualmente de forma assética o CHANG Medium B Basal num número de aliquotas correspondente.
4. Para preparar o CHANG Medium C completo, adicione uma aliquota de suplemento CHANG Medium C descongelado a uma aliquota de CHANG Medium B Basal.
5. Misture bem.

Suplemento congelado

1. Descongele o suplemento congelado CHANG Medium C.
2. Distribua asseticamente em aliquotas 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 aliquotas correspondente.
4. Para preparar o CHANG Medium C completo, adicione uma aliquota de suplemento CHANG Medium C descongelado a uma aliquota 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 CO₂ com a tampa ligeiramente desaperçada.

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 CO₂.
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 CO₂.
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 CO₂–95% 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 CO₂ 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

Conserva 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 à 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 υποκαλλιεργείων 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 (ΚΑΛΙΕΡΓΕΙΑΣ ΙΣΟΡΡΟΠΗΜΕΝΕ ΜΕ ΑΤΜΟΣΦΑΙΡΑ 5% CO₂) ΚΑΙ ΚΛΕΙΣΤΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΚΑΛΙΕΡΓΕΙΑΣ (ΚΑΛΙΕΡΓΕΙΕΣ ΓΕΜΙΣΜΕΝΕΣ ΜΕ 5% CO₂ ΚΑΙ ΕΠΙΔΩΣΜΕΝΕΣ ΜΕ ΤΑ ΔΟΧΕΙΑ ΚΑΛΙΕΡΓΕΙΑΣ ΣΦΙΧΤΑ ΠΩΜΑΤΙΣΜΕΝΑ).

ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΗΣ ΣΥΣΚΕΥΗΣ

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

ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ		
<i>Άλατα και ιόντα</i> <p>Χλωριοχο νάτριο Σεληνικό νάτριο Χλωριοχο ασβέστιο Χλωριοχος χολίνη Χλωριοχο κάλιο Φωσφορικό κάλιο Χλωριοχο μαγνήσιο Θεϊκό μαγνήσιο Φωσφορικό νάτριο Θεϊκός σίδηρος Θεϊκός χαλκός ψευδάργυρος Ρυθμιστικό διάλυμα Διπτανθρακικό νάτριο <i>Αμινοξέα</i> Αλανίνη Αργινίνη Ασπαραγίνη Ασπαρτικό οξύ Κυστεΐνη Κυστίνη Γλουταμικό οξύ Γλουταμίνη Γλυκίνη Ισθθίνη Ισολευκίνη Λευκίνη Κυτθίνη Μεθειονίνη Φαινυλαλανίνη Προλίνη Ζερΐνη Θρεονίνη Τρυπτοφάνη Τυροσίνη Βαλίνη</p>	<i>Πρωτεΐνες, ορμόνες και αυξητικοί παράγοντες</i> <p>Ορός από έμβryo θροσεΐδιο (FBS) Ορός από νεογνό θροσεΐδιον Ανθρώπινη τρανσφερΐνη Αυθτικός παράγοντας ανοβλαστών (FGF) Ινοσυλίνη Προγεστερόνη Τεστοστερόνη Βήτα οιστραδιόλη Υδροκορτιζόνη <i>Νερό</i> Ποσότητα ενέσιμου ύδατος (WFI) <i>Άλλα</i> Υποξανθίνη Βιοτίνη Πουτρεσκίνη Αιθυλική αλκοόλη <i>Αντιοξειδωτικό</i> Θειοκτικό οξύ <i>Νουκλεϊκά οξέα</i> Δεοξυαδενοσΐνη Δεοξυκυτθΐνη Δεοξυουανοσΐνη Αδενοσΐνη Κυτθΐνη Γουανοσΐνη Θυμιδΐνη Ουριδΐνη <i>Ενεργειακά υποστρώματα</i> Γλυκόζη Πυροσταφυλικό Ινοσΐτόλη</p>	<i>Δείκτης pH</i> <p>Ερυθρό της φαινόλης <i>Βιταμίνες και υνδοποιησία</i> Ασκορβικό οξύ Φυλλικό οξύ Φικοντινΐδη Ριβοφλοβΐνη Θεαΐνη Παντοθενικό οξύ Κοβαλαΐνη Πυριδοξάλη Πυριδοξΐνη</p>

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 εξετασεί 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 δοκιμασίας στεριότητας που περιγράφεται στην τρέχουσα δοκιμασία στεριότητας κατά USP <71>.

ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΧΡΗΣΗΣ

Λυοφιλοποιημένο συμπλήρωμα

- Αφήστε το Λυοφιλοποιημένο συμπλήρωμα CHANG Medium C σε ισορροπής 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.
- Περιδιώστε το φιαλίδιο με ήπιες κινήσεις για να δημιουργήσετε πλήρες διάλυμα. (ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Μπορεί να χρειαστεί να επιάσετε 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.
- Αναμείξτε 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

1. Αποψύξτε το κατεψυγμένο συμπλήρωμα CHANG Medium C γρήγορα, περιδινίζοντας το φιαλίδιο σε υδατόλουτρο θερμοκρασίας 37 °C.

2. Μεταφέρετε υπό άσηπτες συνθήκες όλα τα περιεχόμενα του αποψυγμένου συμπληρώματος CHANG Medium C στη φιάλη του CHANG Medium B Basal.

- Αναμείξτε 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.

ΔΙΑΜΟΡΦΑΣΜΟΣ 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.

4. Για να προστοιμάσετε 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 προστοιμάσετε 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 ΚΑΛΙΕΡΓΕΙΩΝ ΠΡΕΠΕΙ ΝΑ ΕΙΝΑΙ ΜΕΤΑΞΥ 6,8 - 7,2 (δηλαδή το μέσο πρέπει να έχει ελαφρώς κίτρινο χρώμα σολομού). Το pH μπορεί να ρυθμιστεί εύκολα, τοποθετώντας το μέσο σε επωαστήρα 5% - 8% CO₂ με το πώμα ελαφρώς χαλαρό. 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 συμπίκνωση των κυττάρων.
- Επαναλάβετε την εναιώριση του κυτταρικού συσσωματώματος σε μικρό όγκο αμνιακού υγρού της ίδιας της ασθενούς. Για παράδειγμα, αναρροφήστε το υπερκείμενο υγρό από τα 10 mL του φυγοκεντρισμένου αμνιακού υγρού, έως τα 0,5 mL πάνω από το κυταρικό συσσωμάτωμα και επαναλάβετε την εναιώριση. Προσθέστε επαρκή ποσότητα CHANG Medium C στο συμπτκνωμένο κυτταρικό εναιώρισμα για να παρασχθεί τελικός όγκος επίστρωσης 0,5 mL ανά καλυπτρίδα (συνολικά 4 καλυπτρίδες) ή 2 mL ανά μπουκαλάκι.
- Επιώστε τις καλλιέργειες αδιατάρακτες σε ατμόσφαιρα 5% CO₂ στους 37 °C.
- Γεμίστε 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 ανάπτυξη τους. Η παροχή θρεπτικού υλικού στις καλλιέργειες θα πρέπει να γίνεται αφού παρατηρηθεί ανάπτυξη. Παρέχετε θρεπτικό υλικό στις καλλιέργειες αφαιρώντας ολόκληρη την ποσότητα του υπερκείμενου υγρού της καλλιέργειας και αντικαθιστώντας το με 2 mL φρέσκο CHANG Medium C. Συνιστάται η παροχή θρεπτικού υλικού στις καλλιέργειες κάθε 2 ημέρες από αυτό το σημείο και έπειτα.
- Ελέγξτε την ανάπτυξη των καλλιεργείων 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 συμπίκνωση των κυττάρων.
- Επαναλάβετε την εναιώριση του κυτταρικού συσσωματώματος σε μικρό όγκο αμνιακού υγρού της ίδιας της ασθενούς, αναρροφήστε το υπερκείμενο υγρό από τα 10 mL του φυγοκεντρισμένου αμνιακού υγρού, έως τα 1 mL πάνω από το κυταρικό συσσωμάτωμα και επαναλάβετε την εναιώριση. Προσθέστε 4 mL CHANG Medium C για συνολικό όγκο 5 mL ανά μπουκαλάκι.
- Επιώστε τις καλλιέργειες αδιατάρακτες σε ατμόσφαιρα 5% CO₂ στους 37 °C.
- Ελέγξτε την ανάπτυξη την ημέρα 5. Αλλάξτε το μέσο με φρέσκο CHANG Medium C και συλλέξτε εάν παρατηρηθεί επαρκής κυτταρική ανάπτυξη.
- Ελέγξτε την ανάπτυξη των καλλιεργείων και αλλάξτε 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% CO₂ - 95% αέρα για 20 δευτερόλεπτα. Σφίξτε τα πώματα στα μπουκαλάκια καλλιέργειας και επιώστε τα στους 37 °C. (Συνιστάται να συνδέεται μια αποστειρωμένη πιπέτα Παστέρ με βύσμα στην πηγή CO₂ για να διασφαλίζεται η στεριότητα του εισερχόμενου αερίου.)

Χρήση του CHANG Medium C για την ανάπτυξη κυττάρων υποκαλλιεργείων 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 πρωτέαση θα πρέπει να παρακολουθείται προσεκτικά. Τα κύτταρα αμνιακού υγρού που καλλιεργούνται στο CHANG Medium C τείνουν να είναι περισσότερο ευαίσθητα στην επεξεργασία με πρωτέαση 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

Ουλάσσετε 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 λεπυοργία του. Δεν συνιστάται η φύλαξη για διάστημα μεγαλύτερο των 10 ημερών.

ΜΗΝ ΚΑΤΆΨΥΧΕΤΕ ΤΟ ΠΛΗΡΕΣ CHANG MEDIUM C.

ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΕΙΣ

Η συσκευη 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.

ČEŠTINA

INDIKACE PRO POUŽITÍ

CHANG Medium C lze použít pro tyto aplikace:

- primokultivace buněk z plodové vody
- pěstování pasážovaných buněk z plodové vody
- kultivace buněk kostní dřeně
- odběr vzorků pevně amniotické tkáně z choriových klků

TOTO MEDIUM JE URČENO K POUŽITÍ V OTEVŘENÝCH (KULTURY EKVLIBROVÁNY S ATMOSFÉROU S 5 % CO₂) I UZAVŘENÝCH KULTIVAČNÍCH SYSTÉMECH (KULTURY ZAPLAVENY 5 % CO₂ A INKUBOVÁNY V PEVNĚ UZAVŘENÝCH KULTIVAČNÍCH NÁDOBÁCH).

POPIS PROSTRĚDKU

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

<i>Soli a ionty</i> <p>Chlorid sodný Seleničitan sodný Chlorid vápenatý Cholinchlorid Chlorid draselný Fosforečnan draselný Chlorid hořečnatý Siran hořečnatý Fosforečnan sodný Siran železnatý Siran mědnatý Siran zinečnatý <i>Puřř</i> Hydrogenuhlíčen sodný <i>Aminokyseliny</i> Alanin Arginin Asparagin Kyselina asparagová Cystein Cystin Kyselina glutamová Glutamin Glycin Histidin Isoleucin Leucin Lysin Methionin Fenylalanin Prolin Serin Threonin Tryptofan Tyrosin Valin</p>	<i>Proteinny hormony a růstové faktory</i> <p>Fetální bovinní sérum (FBS) Novorozenecké bovinní sérum Lidský transferin Fibroblastový růstový faktor (FGF) Inzulín Progesteron Testosteron Beta-estradiol Hydrokortison <i>Voda</i> V kvalitě vody pro injekci <i>Oslatni</i> Hypoxantin Biotin Putrescin Etylalkohol <i>Antioxidant</i> Kyselina thiotoková <i>Nukleové kyseliny</i> Deoxyadenosin Deoxycytidin Deoxyguanosin Adenosin Cytidin Guanosin Thymidin Uridin <i>Energetické substráty</i> Glukóza Pyruvát Inositol</p>	<i>Indikátor pH</i> <p>Fenolová červeně <i>Vitaminsy a stopové prvky</i> Kyselina askorbová Nikolínamid Riboflavin Thiamin Kyselina pantothenová Kobalamin Pyridoxal Pyridoxin</p>
---	--	--

- Asepticky přeneste celý objem rekonstituovaného doplnku CHANG Medium C do lahve s CHANG Medium B Basal.
- Kompletní médium CHANG Medium C dobře rozmrazte kroužením lahvičkou ve vodní lázni o teplotě 37 °C.
- Přidejte L-glutamin, 10,0 ml/l (200 mM). Podle potřeby lze přidat antibiotika.

Zmrazený doplněk

- Zmrazený doplněk CHANG Medium C rychle rozmrazte kroužením lahvičkou ve vodní lázni o teplotě 37 °C.
- Asepticky přeneste celý objem rozmrazeného doplnku CHANG Medium C do lahve s CHANG Medium B Basal.
- Kompletní médium CHANG Medium C dobře promíchejte kroužením lahví.
- 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:
- Rekonstruujte lyofilizovaný doplněk CHANG Medium C.
 - Asepticky rozdělte na díly o příhodném objemu a zmrazte.
 - Rovněž asepticky rozdělte CHANG Medium B Basal na odpovídající počet dílů.
 - Kompletní médium CHANG Medium C připravte přidáním jednoho dílu rozmrazeného doplnku CHANG Medium C do jednoho dílu CHANG Medium B Basal.

- Důkladně promíchejte.
- Rozmrazte zmrazený doplněk CHANG Medium C. Asepticky rozdělte na díly o příhodném objemu a znovu zmrazte. (POZNÁMKA: Lahvička doplnku obsahuje 14 ml nebo 70 ml. Rozdělte rovnoměrně.)

Zmrazený doplněk

- Rozmrazte zmrazený doplněk CHANG Medium C. Asepticky rozdělte na díly o příhodném objemu a znovu zmrazte. (POZNÁMKA: Lahvička doplnku obsahuje 14 ml nebo 70 ml. Rozdělte rovnoměrně.)
- Důkladně promíchejte.
- Rozmrazte zmrazený doplněk CHANG Medium C. Asepticky rozdělte na díly o příhodném objemu a znovu zmrazte. (POZNÁMKA: Lahvička doplnku obsahuje 14 ml nebo 70 ml. Rozdělte rovnoměrně.)
- Kompletní médium CHANG Medium C připravte přidáním jednoho dílu rozmrazeného doplnku CHANG Medium C do jednoho dílu CHANG Medium B Basal.

- Důkladně promíchejte.

NÁVOD K POUŽITÍ

pH MÉDIA POUŽIVÁNEHO K VÝŽIVĚ KULTUR MUSÍ BÝT V ROZMĚZÍ 6,8–7,2 (tj. médium musí mít mírně nažloutlou–lososovou barvu). pH lze snadno upravit vložením média s mírně uvolněným uzavěrem do inkubátoru s atmosférou 5 % – 8 % CO₂. Konečná 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

- Odstředěním plodové vody při nízkých otáčkách koncentrujte buňky.
- Resuspendujte buněčný pelet v malém objemu vlastní plodové vody pacientky. Například aspirujte supernatant z 10 ml odstředěné plodové vody, aby zbyl jen 0,5 ml nad buněčným peletem a resuspendujte. Ke koncentrování buněčné suspenzei 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.
- Inkubujte kultury nerušeně při teplotě 37 °C a v atmosféře s 5 % CO₂.
2. den kultury zaplavte přidáním 2 ml CHANG Medium C.
- Po 4 až 5 dnech zkontrolujte růst kultur. Jakmile začnou růst, je třeba dodat živiny. Živiny dodejte tak, že odstraníte veškerý supernatant kultury a nahradíte ho 2 ml čerstvého CHANG Medium C. Poté doporučujeme kulturám doplňovat živiny každé 2 dny.

5. den nebo po něm kontrolujte růst kultur a když zjistíte dostatečné kolonie, proveďte sběr.
- 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

- Odstředěním plodové vody při nízkých otáčkách koncentrujte buňky.
- 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.
- Inkubujte kultury nerušeně při teplotě 37 °C a v atmosféře s 5 % CO₂.
5. den zkontrolujte růst. Nahradte médium čerstvým médiem CHANG Medium C a, pokud zjistíte dostatečný růst buněk, proveďte sběr.
- Následně kontrolujte růst kultur a provádějte úplné výměny média každý druhý den, dokud nezjistíte dostatečné kolonie a nejste připraveni ke sběru.
- 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 % CO₂ a 95 % vzduchu. Utáhněte uzavěry inkubačních lahví a inkubujte je při teplotě 37 °C. (K zaručení sterility předtěstěného plynu se doporučuje ke zdrojů CO₂ připojit sterilní zasažkovanou Pasturovu 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.

DANSK

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 % CO₂) OG LUKKEDE DYRKNINGSSYSTEMER (KULTURER TILSAT 5 % CO₂ OG INKUBERET MED TÆT LUKKET LÅG PÅ DYRKNINGSKARRERNE).

BESKRIVELSE AF PRODUKTET

CHANG Medium C blev udviklet til primær dyrkning af humane amnionvæskeceller til karyotypebestemmelse og anden antenatal genetisk testing. 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	Føtal bovint serum (FBS)	Rod fenol
Natriumselenit	Serum fra nyfødt kalv	<u>Vitaminer og sporelementer</u>
Kalciumklorid	Human transferrin	Ascorbinsyre
Kolinoklorid	Fibroblastvækstfaktor (FGF)	Folinsyre
Kaliumklorid	Insulin	Nicotinamid
Kaliumfosfat	Progesteron	Riboflavin
Magnesiumklorid	Beta-østradiol	Thiamin
Magnesiumsulfat	Hydrokortison	Pantothenesyre
Natriumfosfat	<u>Vand</u>	Cobalamin
Jernsulfat	At kvaliteten til injektionsvæske	Pyridoxin
Cuprisulfat	Andet	
Zinksulfat	Hypoxanthin	
<u>Buffer</u>	Biotin	
Natriumbikarbonat	Cystein	
<u>Aminosyrer</u>	Putrescin	
Alanin	Ætylalkohol	
Arginin	Amlioxidant	
Asparagin	Thioctsyre	
Asparaginsyre	<u>Nukleinsyrer</u>	
Cystein	Deoxyadenosin	
Cystin	Deoxycytidin	
Glutaminsyre	Leucin	
Glutamin	Lysin	
Glycin	Methionin	
Histidin	Phenylalanin	
Isoleucin	Prolin	
Leucin	Serin	
Lysin	Threonin	
Methionin	Tryptofan	
Phenylalanin	Tyrosin	
Prolin	Valin	
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. Oplø 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 en afmålt mængde optøet CHANG Medium C-supplement til én afmålt mængde CHANG Medium B Basal.
5. Bland godt.

Frossent supplement

1. Oplø 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 en afmålt mængde optøet CHANG Medium C-supplement til én afmålt mængde CHANG Medium B Basal.
5. Bland godt.

BRUGSANVISNING

pH-VÆRDIEN AF DET MEDIUM, DER ANVENDES TIL KULTURERNE, SKAL VÆRE 6,8-7,2 (dvs. at mediet skal have en let gullig laksefarve). pH-værdien kan let justeres ved at anbringe mediet i en inkubator med 5-8 % CO₂ med låget løsnet let.

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 amnionvæskeden ved lav hastighed for at koncentrere cellerne.
2. Resuspender cellepelletten i en lille volumen af patientens egen amnionvæske. Aspirer f.eks. supernatanten fra 10 ml centrifugeret amnionvæske til 0,5 ml over cellepelletten, og resuspender. Tilsæt nok CHANG Medium C til den koncentrerede celluspension 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 % CO₂.
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 amnionvæskeden ved lav hastighed for at koncentrere cellerne.
2. Resuspender cellepelletten i en lille volumen af patientens egen amnionvæske. Aspirer f.eks. supernatanten fra 10 ml centrifugeret amnionvæske til 1 ml over cellepelletten, 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 % CO₂.
4. Kontroller væksten på dag 5. Udskift mediet med friskt CHANG Medium C, og høst, hvis der observeres tilstrækkelig cellevækst.
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 % CO₂ - 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 CO₂-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 de indicerede anvendelse, som dette udstyr er beregnet til. Anvend ikke CHANG Medium C efter den udløbsdato, der er angivet på de enkelte etiketter.

KÄYTTÖAIE

CHANG Medium C -elatusainetta voidaan käyttää seuraaviin tarkoituksiin:

- lapsivesisolujen primaariviljely
 - siirrostettujen lapsivesisolujen kasvattaminen
 - luuidynsolujen viljely
 - kiinteä amnionkalvokudos istukkabiopsiasta.
- TÄMÄ ELATUSAINE ON SUUNNITELTU KÄYTETTÄVÄKSI SEKÄ AVOIMISSA JÄRJESTELMISSÄ (VILJELMAT, JOTKA ON TASAPAINOTETTU 5-PROSENTTISEEN CO₂-ILMAKEHÄÄN) ETTA SULJETUISSA JÄRJESTELMISSÄ (VILJELMAT, JOTKA ON TÄYTTETY 5-PROSENTTISELLA CO₂-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 ETTA SULJETTUJA JÄRJESTELMIA VARTEN.

AINESOSAT

Sulolat ja ionit	Proteiinit, hormonit ja kasvutekijät	pH-indikaattori
natriumkloridi	proteiinien ja kasvutekijät nautan sikion seerumi (FBS)	fenolipuna
natriumseleniitti	kalsiumkloridi	Vitamiinit ja hivemainedat
kalsiumkloridi	koliinikloridi	vastasyntyneen nautan seerumi
kaliumpkloridi	kaliumpkloridi	foolihappo
kalsiumfosfaatti	magnesiumkloridi	ihmisen transferrini
magnesiumkloridi	magnesiumsulfaatti	fibroblastikasvutekijä (FGF)
natriumfosfaatti	ferrosulfaatti	insulini
kuparisulfaatti	pyridoksaali	progesteroni
sinkkisulfaatti	Puskuri	testosteroni
natriumbikarbonaatti	Aminohapot	beetaestradioli
Aminohapot	alanini	hydrokortisoni
arginiini	etiini	Vesi
asparagiini	asparagiinihappo	injektionesteisiin tarkoitettun veden laatuinen
kestyeiini	kestyeiini	Muut
glutamiinihappo	glutamiini	hypoksantiini
glutamiini	glysiini	biotiini
histidiini	isoleusiini	putreskiini
leusiini	lyysiini	etanoli
metioniini	fenyylialaniini	Antioksidantti
proliini	seriini	tioktiinihappo
treoniini	tryptofaani	tyrosiini
valiini		valiini
		Energiasubstraait
		glukoosi
		pyruvaatti
		inosioli

LAADUNVARMENNUS

STERILIIYS

CHANG Medium C Supplement -tuotteen valmistuksessa käytettävä seerumi on testattu viruskontaminaation varalta CFR-säännöksen osan 9 pykälän 113.53 mukaisesti. Se on seuloitu myös mykoplasmaakontaminaation 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-steriiliiytestissä <71> kuvattua steriilitestausmenettelyä.

KÄYTÖN VALMISTELU

Kylmäkuivattu Supplement-tuote

- Anna kylmäkuivattu CHANG Medium C Supplement -tuotteen tasapainoitua huoneenlämpöön.
- Lisää aseptista menettelyä käyttäen 10 ml tai 50 ml steriiliä liislattua 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.

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

Pakastettu Supplement-tuote

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

CHANG MEDIUM C SUPPLEMENT -LIUOKSEN JAKAMINEN ERIIN Kylmäkuivattu Supplement-tuote

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

- Luota kylmäkuivattu CHANG Medium C Supplement -tuote nesteeseen.
- Jaa aseptista menettelyä käyttäen käteväen kokoisin eriin ja pakasta ne.
- Jaa myös CHANG Medium B Basal aseptista menettelyä käyttäen vastaavaan määrään eriä.
- Valmistà koko valmis CHANG Medium C lisämällä yksi erä sulatettua CHANG Medium C Supplement -tuotetta yhteen erään CHANG Medium B Basal -liuosta.
- Sekoita hyvin.

Pakastettu Supplement-tuote

- Sulata pakastettu CHANG Medium C Supplement -tuote.
- Jaa aseptista menettelyä käyttäen käteväen kokoisin eriin ja pakasta uudelleen. (HUOMAUTUS: Ravintolisäpullo sisältää 14 ml tai 70 ml tuotetta. Jaa tasaeriin.)
- Jaa myös CHANG Medium B Basal aseptista menettelyä käyttäen vastaavaan määrään eriä.
- Valmistà koko valmis CHANG Medium C lisämällä yksi erä sulatettua CHANG Medium C Supplement -tuotetta yhteen erään CHANG Medium B Basal -liuosta.
- Sekoita hyvin.

KÄYTTÖOHJEET

VILJELMIEN RAVITSEMISEEN KÄYTTÄVÄN LIUOKSEN 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 CO₂-lämpökapaapin korkki hieman löysällä.

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

Kunkin laboratorion tulee katsoa lisäohjeet näiden tuotteiden käyttöä varten omista laboratoriakäytäntö- ja protokollaohejistaan, jotka on kehitetty ja optimoitu nimenomaan laboratorion omaa terveydenhuolto-ohjelmaa varten.

CHANG MEDIUM C-liuoksen käyttäminen primaariviljelmiin: in situ -menetelmät

- Konsentrioli solut sentrifugoimalla lapsivettä pienellä nopeudella.
- 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 konsentroitluun solususpensioon, niin että lopullinen maljaustilavuus on 0,5 ml / peitlinasi (yhteensä 4 peitlinlasia) tai 2 ml / pieni viljelypullo.

- Inkuboi viljelmiä ilman häiriöitä 37 °C:ssa 5-prosenttisessa CO₂-ilmakehässä.
- Lisää viljelmiin 2 ml CHANG Medium C -liuosta päivänä 2.
- Viljelmien kasvu on tarkistettava 4–5 päivän kuluttua. Viljelmiä on ravittava, kun kasvia 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.
- Tarkista viljelmien kasvu päivinä 5 tai sen jälkeen. Kerää solut, kun havaitaan riittävästi pesäkkeitä.
- Parhaat tulokset saadaan, kun viljelmiä ravitaan CHANG Medium C -liuoksella keräämistä edeltävänä päivänä.

CHANG Medium C -liuoksen käyttäminen primaariviljelmiin: pullomenetelmät

- Konsentrioli solut sentrifugoimalla lapsivettä pienellä nopeudella.
- 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.
- Inkuboi viljelmiä ilman häiriöitä 37 °C:ssa 5-prosenttisessa CO₂-ilmakehässä.
- Tarkista kasvu päivänä 5. Vaihda elatusaine tuoreeseen CHANG Medium C -liuokseen ja kerää solut, jos havaitaan riittävä soluskasvu.
- Tarkista viljelmien kasvu ja vaihda elatusaine kokonaan uuteen sen jälkeen joka toinen päivä, kunnes havaitaan riittävästi pesäkkeitä ja ne ovat valmiita kerattaviksi.
- Parhaat tulokset saadaan, kun viljelmiä ravitaan CHANG Medium C -liuoksella keräämistä edeltävänä päivänä.

HUOMAUTUS: Suljetuissa järjestelmissä jokaista viljelypulloa on huuhdeltava 20 sekunnin ajan seoksella 5 % CO₂ – 95 % ilmaa. Kiristä viljelypullojen korkit kiinni ja inkuboi pulloja 37 °C:ssa. (On suositeltavaa, että CO₂-lähteeseen kiinnitetään steriili, pumputillukolla varustettu pasteuripetti saapuvan kaasun steriililyden varmistamiseksi.)

CHANG Medium C-liuoksen käyttäminen siirrostettujen lapsivesisolujen kasvattamiseen:

Siirrosta solut käsittelemällä viljelmät trypsiinillä (tai pronasailla jne.) kuten normaalistekin, kun soluja kasvatetaan perinteisessä elatusaineessa. Proteaasikäsittelyä on kuitenkin valvottava huolella. CHANG Medium C -liuoksessa kasvatetut lapsivesisolut ovat herkempia proteaasikasittelylle kuin perinteisessä elatusaineessa kasvatetut lapsivesisolut. Kasvatusmenetelmää on ehkä muutettava tämän huomioion ottamiseksi.

SÄILYTTÄMINEN JA STABIILIS

Säilytä pakaslettua 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 käyttövalmistista 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 pulloelikeiteistä. Käyttövalmistista CHANG Medium C -elatusainelta voidaan säilyttää 2–8 °C:ssa:na 10 päivän ajan ennen käyttöä sen toimintaan vaikuttamatta. Yli 10 päivän säilytysaika ei suositella. KÄYTTÖVALMISTA CHANG MEDIUM C -ELATUSAINETTA EI SAA PAKASTAA. VAVAROIMET JA VAVOITUKSET 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 etikeiteissä osoitetun viimeisen käyttöpäivän jälkeen.

LATVIENS

LIETOŠANAS INDIKĀCIJA

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

- Augļa ūdens šūnu primārā kultivēšanā.
- Pāršētu augļa ūdens šūnu audzēšanā.
- Kaulu smadzeņu šūnu kultivēšanā.
- Kompaktajiem amnija audiem, kas iegūti horija bārkstīņu parauga izmeklēšanā.

ŠĪ BAROTNE IR PAREDZĒTA IZMANTOŠANAI GAN VAĻĒJĀS (KULTŪRAS LĪDZSVARO 5 % CO₂ VIDĒ), GAN SLĒGTĀS KULTIVĒŠANAS SISTĒMĀS (KULTŪRAS UZPLUDINA AR 5 % CO₂ UN, CIESI AR AIZBĀZNI NOSLĒDZOT KULTŪRU TRAUKUS, INKUBĒ).

IERĪCES APRAKSTS

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

SASTĀVDAĻAS

Sāļi un jonī	Proteīni, hormoni un augšanas faktori	Enerģijas substrāti
Nātrija hlorīds	Nātrija selenīts	Glikoze
Nātrija hlorīds	Kalcija hlorīds	Lielpūpu embriju serums (<i>tetal bovine serum – FBS</i>)
Hollīna hlorīds	Kalija fosfāts	jaundzimušo telu serums
Kalija fosfāts	Magnija hlorīds	Magnija sulfāts
Nātrija hlorīds	Magnija sulfāts	Nātrija fosfāts
Dezēls sulfāts	Dezēls sulfāts	augšanas faktors (<i>fibroblast growth factor – FGF</i>)
Cinka sulfāts	Bufērskāidums	Insulīns
Nātrija bikarbonāts	Antioksidācijas aģenti	Progesterons
Alaīnins	Alanīns	Testosterons
Arginīns	Arginīns	Bēta estradiols
Asparagīns	Asparagīns	Hidrokortizons
Asparagīnskābe	Cisteīns	Ūdens
Cisteīns	Citons	Injekciju ūdens (<i>WFI</i>) kvalitāte
Glutamīnskābe	Glutamīns	Citons
Glutamīns	Glicīns	Hipoksantīns
Glicīns	Etīlspirts	Biotīns
Histidīns	Izoleiēcīns	Putrescīns
Izoleiēcīns	Leiciēns	Etilspirts
Lizīns	Metionīns	Antioksidants
Metionīns	Penilalanīns	Tioktinskābe
Prolīns	Serīns	Nukleīnskābes
Treonīns	Triptofāns	Dezoksidiadenozīns
Tirozīns	Tirozīns	Dezoksicitidīns
Valīns	Valīns	Dezoksiguanozīns
		Adenozīns
		Citidīns
		Guanozīns
		Timidīns
		Uridīns

KVALITĀTES NODROŠINĀŠANA STERILITĀTE

„CHANG Medium C” piedevas ražošanā izmantotais serums pārbaudīts, lai noteiktu vīrusālo 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 pašreizējās ASV Farmakopoņas (*USP*) sterilitātes testā <71>. SAGATAVOŠANA LIETOŠANAI

Liofilizētā piedeva

- Ļaujiet „CHANG Medium C” liofilizētājai piedevai līdzsvaroties līdz istabas temperatūrai.
- Aseptiskā veidā liofilizātān 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”.

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

Saldētā piedeva

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

„CHANG MEDIUM C” PIEDEVAS DALĪŠANA ALIKVOTAJĀS DAĻĀS Liofilizētā piedeva

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

- Sagatavojiet „CHANG Medium C” liofilizēto piedevu.
- Aseptiskā veidā sadaliet piemērotā lieluma alikvotajās daļās un sasaldājiet.
- Aseptiskā veidā arī pamata „CHANG Medium B” sadaliet attiecīga skaita alikvotajās daļās.
- Lai sagatavotu pilnīgo „CHANG Medium C”, vienu alikvoto daļu atkausētas „CHANG Medium C” piedevas pievienojiet vienai alikvotajai daļai pamata „CHANG Medium B”.
- Labi samaisiet.

Saldētā piedeva

- Atkausējiet „CHANG Medium C” saldēto piedevu.
- Aseptiskā veidā sadaliet piemērota lieluma alikvotajās daļās un atkārtoši sasaldājiet. (PIEZĪME: flakons satur 14 ml vai 70 ml piedevas. Sadaliet vienādās daļās.)
- Aseptiskā veidā arī pamata „CHANG Medium B” sadaliet attiecīga skaita alikvotajās daļās.
- Lai sagatavotu pilnīgo „CHANG Medium C”, vienu alikvoto daļu atkausētas „CHANG Medium C” piedevas pievienojiet vienai alikvotajai daļai pamata „CHANG Medium B”.
- 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 vajīgāk uzliktu aizbāzni ievietojot 5–8 % CO₂ 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

- Centrifugējiet augļa ūdeni ar nelielu ātrumu, lai koncentrētu šūnas.
- Šūnu lodīti atkārtoši suspendējiet nelielā daudzumā paša pacienta augļa ūdens. Piemēram, aspirējiet supernatantu no 10 ml augļa ūdens centrifugāta līdz 0,5 ml virs šūnu lodītes un atkārtoši suspendējiet. Koncentrētajai šūnu suspensijai pievienojiet pieliekamu daudzumu „CHANG Medium C”, lai iegūtu galīgo uzšēšanas daudzumu – 0,5 ml uz katru segstiklīņu (pavisam 4 segstiklīņi) vai 2 ml uz flakonu.
- Netrāucēti inkubējiet kultūras 37 °C temperatūrā 5 % CO₂ vidē.
2. dienā uzpludiniet kultūras, pievienojot 2 ml „CHANG Medium C”.

- 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.
5. dienā/vai pēc tās pārbaudiet kultūru augšanu un, kad novēro pietiekama apjoma kolonijas, ievāciet šūnas.
- Vislabāk rezultātus iegūst, ja kultūras papildina ar „CHANG Medium C” vienu dienu pirms ievākšanas.

„CHANG Medium C” lietošana primārajai kultivēšanai: flakona metodes

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

PIEZĪME: slēgtās sistēmās katru kultūras flakonu 20 sekundes skalojiet ar 5 % CO₂ un 95 % gaisa maisījumu. Kultūras flakoniem cieši uzliciet aizbāžņu un inkubējiet 37 °C temperatūrā. (CO₂ avotam ieteicams piesitprināt sterilu Pastēra pipeti ar aizbāzni, lai nodrošinātu iepūlstošās gāzes sterilitāti.)

„CHANG Medium C” izmantošana pāršētu augļa ūdens šūnu audzēšanai

Lai pāršētu šūnas, kultūras apstrādājiet ar tripsīnu (vai pronāzu u. c.), kā to parasti darītu, ja šūnas tiktu audzētas standartā 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 standartā barotnē audzētām augļa ūdens šūnām. Lai šo ņemtu vērā, iespējams, jāpārbauda protokols.

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

NESASALDĒTĀ PILNĪGO „CHANG Medium C”. PIESARDZĪBAS PASĀKUMI UN BRĪDINĀJUMI

Šī ierīce ir paredzēta procedūras, arī tādās, kurām šī ierīce ir paredzēta, āpmācīta personāla lietošanai. „CHANG Medium C” sastāvdaļas nelietot pēc derīguma termiņa, kas norādīts uz etiķetēs.

NEDERLANDS

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 beemergerellen
4. vast amnionweefsel van een chorionvillusbiopsie.

DIT MEDIUM IS BEDOELD VOOR GEBRUIK IN ZOWEL OPEN (KWEKEN DIE ZIJN GEEQUILIBREERD MET EEN 5% CO₂-ATMOSFEER) ALS GESLOTEN KWEKESYSTEMEN (KWEKEN DIE VOLLEDIG BEDEKT ZIJN MET 5% CO₂ EN GEINCUBEERD IN GOED AFGESLOTEN KWEKFLESSEN).

BESCHRIJVING VAN HET HULPMIDDEL

CHANG Medium C is ontworpen 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</u>	<u>pH-indicator</u>
Natriumchloride	<u>en groei-factoren</u>	Fenolrood
Natriumseleniet	Foetaal	<u>Vitaminen en</u>
Calciumchloride	runderserum (FBS)	<u>sporelelementen</u>
Cholinechloride	Pasgeboren	Ascorbinezuur
Kaliumchloride	kalfserum	Foliumzuur
Kaliumfosfaat	Menselijk	Nicotinamide
Magnesiumchloride	transferrine	Riboflavine
Magnesiumsulfaat	Fibroblast	Thiamine
Natriumfosfaat	groeifactor (FGF)	Pantotheenzuur
Ferrosulfaat	Insuline	Cobalamin
Cuprisulfaat	Progesteron	Pyridoxaal
Zinksulfaat	Testosteron	Pyridoxine
<u>Buffer</u>	Beta-oes-tradiol	
Natriumbicarbonaat	Hydrocortison	
<u>Aminozuren</u>	<u>Water</u>	
Alanine	Farmacologisch	
Arginine	kwaliiteitswater	
Asparagine	(WFI)	
Asparaginezuur	<u>Overige</u>	
Cysteine	Hypoxanthine	
Cytidine	Biotine	
Glutaminezuur	Putrescine	
Glutamine	Ethylalcohol	
Glycine	<u>Antioxidant</u>	
Histidine	Alfa-liponzuur	
Isoleucine	<u>Nucleinezuren</u>	
Leucine	Deoxyadenosine	
Lysine	Deoxycytidine	
Methionine	Deoxyguanosine	
Fenylalanine	Adenosine	
Proline	Cytidine	
Serine	Guanosine	
Treonine	Thymidine	
Tryptofaan	Uridine	
Tyrosine	<u>Energie substraten</u>	
Valine	Glucose	
	Pyruvaat	
	Inositol	

KWALITEITSBORGING

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 sterilitestprotocol beschreven in de huidige Amerikaanse Farmacopee (USP) sterilitest <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 KWEKE TE VOEDEN, MOET TUSSEN 6,8 EN 7,2 LIGGEN (d.w.z. dat het medium een enigszins gelge zalmkleur moet hebben). De pH-waarde kan eenvoudig worden aangepast door het medium met een iets losgedraaide dop in een 5%-8% CO₂-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 laboratoriuurprocedures 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. Resuspender 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 resuspender. 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% CO₂-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 kwekesupernatant 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 kolonien 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. Resuspender 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 resuspender. 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% CO₂-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 kolonien 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 kwekfles gedurende 20 seconden met 5% CO₂ - 95% lucht. Draai de doppen op de kwekflessen vast en incubeer bij 37 °C. (Aanbevolen wordt een steriele afgesloten pasteurpijp op de CO₂-bron aan te sluiten om de sterilitet van het instromende gas te garanderen.)

Gebruik van CHANG Medium C voor

het groeien van gepasseerde vruchtwatercellen:

Passer 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. Het complete CHANG Medium B Basal mag niet worden ingevroren.

Bescherm tegen fluorescentielicht.

Raadpleeg de etiketten op de flessen met individuele componenten voor specifieke houdbaarheidsdatums. 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.

PRZEZNACZENIE

Pożywką CHANG Medium C może być używana do następujących zastosowań:

- hodowli pierwotnej komórek płynu owodniowego
- wzrostu pasażowanych komórek płynu owodniowego
- hodowli komórek szpiku kostnego
- litaj tkanki owodniowej z biopsji kosmków kosmówki
- POŻYWKĘ ZAPROJEKTOWANO DO UŻYTKU W SYSTEMACH HODOWLI OTWARTYCH (HODOWLE DOPROWADZONE DO RÓWNOWAGI W ATMOSFERZE 5% CO₂) I ZAMKNIĘTYCH (HODOWLE NAPELNIONE MIESZANINĄ Z 5% CO₂ 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

Sole i jony	Białka, hormony	Wskaźnik pH
Chlorek sodu	Łczynniki wzrostu	Czerwień fenolowa
Selenian sodu	Płodowa surowica	Witaminy
Chlorek wapnia	bydłęca (FBS)	I pierwiastki śladowe
Chlorek choliny	Surowica	Kwas askorbinowy
Chlorek potasu	nowonarodzonych	Kwas foliowy
Fosforan potasu	cielał	Nikotynamid
Chlorek magnezu	Ludzka transferyna	Ryboflawina
Siarczan magnezu	Czynniki wzrostu	fibroblastów (FGF)
Fosforan sodu	Siarczan żelaza	Insulina
Siarczan żelaza	Siarczan miedzi	Progesteron
Siarczan cynku	Bufor	Testosteron
Wodorowęglan sodu	Hydrokortyzon	Beta-estradiol
Aminokwasy	Woda	Woda o jakości WFI
Alanina	Woda o jakości WFI	Inne
Arginina	Hipokantyna	Biotyna
Asparagina	Kwas asparaginowy	Cysteina
Kwas asparaginowy	Cystyna	Glutamina
Cystyna	Kwas glutaminowy	Glicyna
Kwas glutaminowy	Glutamina	Histydyna
Glicyna	Kwas tyktoanowy	Isoleucyna
Histydyna	Kwasy nukleinowe	Leucyna
Isoleucyna	Deoksyadenozyna	Lizyna
Leucyna	Deoksycytidyna	Metionina
Lizyna	Adenozyna	Fenilalanina
Metionina	Cytydyna	Prolina
Fenylalanina	Guanozyna	Seryna
Prolina	Tymidyna	Treonina
Seryna	Urydyna	Triptofan
Treonina	Substraty	Tyrozyna
Triptofan	energetyczne	Walina
Tyrozyna	Glukoza	
Walina	Pirogrianian	
	Inozytol	

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 bakteryjnego zgodnie z protokołem badania sterylności opisanym w najnowszym badaniu sterylności wg Farmakopei Amerykańskiej (USP) <71>.

PRZYKOTOWANIE DO UŻYCIA

Liofilizowany dodatek

- Doprowadzić liofilizowany dodatek CHANG Medium C do temperatury pokojowej.
- 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.

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

Zamrożony dodatek

- Szybko rozmrozić zamrożony dodatek CHANG Medium C, obracając fiolkę ruchem wirowym w łaźni wodnej nastawionej na temperaturę 37°C.
- Aseptycznie przenieść całą zawartość rozmrożonego dodatku CHANG Medium C do butelki z pożywką podstawową CHANG Medium B Basal.
- Dobrze wymieszać kompletną pożywkę CHANG Medium C, obracając butelkę ruchem wirowym.
- 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 zużycie całej kompletnej pożywki CHANG Medium C w ciągu 10 dni, można przygotować mniejszą ilość pożywki, modyfikując procedurę w poniższy sposób:

- Zrekonstytuować liofilizowany dodatek CHANG Medium C.
- W sposób aseptyczny rozdzielić dodatek na porcje o odpowiednim rozmiarze, a następnie zamrozić.
- W sposób aseptyczny rozdzielić również pożywkę podstawową CHANG Medium B Basal na odpowiednią liczbę porcji.
- 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.
- Zamrożony dodatek**
- Rozmrozić zamrożony dodatek CHANG Medium C.
- 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).
- W sposób aseptyczny rozdzielić również pożywkę podstawową CHANG Medium B Basal na odpowiednią liczbę porcji.
- 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 MIEĆSIĘ SIĘ W ZAKRESIE 6,8–7,2 (tzn. kolor pożywki musi być lekko żółtawo-tososiowy). Wartość pH można łatwo wyregulować, umieszczając pożywkę w butelce z lekko odkręconą zatyczką w inkubatorze z atmosferą 5%–8% CO₂. 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

- Odwirować płyn owodniowy przy niskiej prędkości, aby zażyć komórki.
- 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 zażętej zawiesiny komórkowej, aby uzyskać końcową objętość posiewu równą 0,5 ml na szkiełko nakrywkowe (łącznie 4 szkiełka nakrywkowe) lub 2 ml na butelkę hodowlaną.

- Inkubować hodowle w temperaturze 37°C w atmosferze 5% CO₂, nie zakłócając ich.
- W dniu 2. zalać hodowle, dodając 2 ml pożywki CHANG Medium C.
- Po 4–5 dniach sprawdzić wzrost hodowli. Po zaobserwowaniu wzrostu należy zasilić hodowle pożywką. Zasilić hodowle pożywką, usuwając cały nadsącz hodowli i zastępując go 2 ml świeżej pożywki CHANG Medium C. Po wykonaniu tej czynności zalecane jest zasilenie hodowli pożywką co 2 dni.
- Sprawdzić wzrost hodowli w 5. dniu lub w późniejszych dniach i zebrać komórki, jeśli zaobserwowano wystarczającą liczbę kolonii.
- Najlepsze wyniki otrzymywano, gdy zasilano hodowle pożywką CHANG Medium C dzień przed zbierzem.

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

- Odwirować płyn owodniowy przy niskiej prędkości, aby zażyć komórki.
- 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.
- Inkubować hodowle w temperaturze 37°C w atmosferze 5% CO₂, nie zakłócając ich.
- Sprawdzić wzrost hodowli w 5. dniu. Zmienić pożywkę na świeżą pożywkę CHANG Medium C i zebrać komórki, jeśli zaobserwowano wystarczający wzrost komórek.
- Po wykonaniu tej czynności sprawdzać wzrost hodowli i co drugi dzień całkowicie wymienić pożywkę do czasu zaobserwowania wystarczającej liczby kolonii gotowych do zbioru.
- Najlepsze wyniki otrzymywano, gdy zasilano hodowle pożywką CHANG Medium C dzień przed zbierzem.

UWAGA: W przypadku systemów hodowli zamkniętych płukać każdą butelkę hodowlaną mieszaniną o składzie 5% CO₂ 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 CO₂).

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

Aby wykonać pasaż komórek, poddać hodowle działaniu trypsiny (lub pronazy itp.), w taki sam sposób, jak w przypadku komórek rosnących w pożywkę standardowej. Jednakże należy ściśle monitorować komórki poddawane działaniu proteazy. Komórki płynu owodniowego rosnące w pożywkę CHANG Medium C zwykłe są bardziej wrażliwe na działanie proteazy niż komórki płynu owodniowego rosnące w pożywkę 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 użyciu 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.

ROMÂNĂ

INDICAȚIE DE UTILIZARE

CHANG Medium C se poate utiliza pentru următoarele întrebuintări:

- cultura primară a celulelor din lichidul amniotic
- creșterea celulelor din lichidul amniotic pasajate
- cultura celulelor din măduva osoasă
- țesut amniotic solid din probele de vili chorionici colectate.

ACEST MEDIU A FOST PROIECTAT PENTRU UTILIZARE ATĂT ÎN CULTURI DESCHISE (CULTURI ECHILIBRATE CU O ATMOSFERĂ DE CO₂ 5%), CÂT ȘI ÎN SISTEME DE CULTURI ÎNCHISE (CULTURI ÎNUNDATE CU CO₂ 5% ȘI ÎNCUBATE CU VASELE DE CULTURĂ ÎMBUTELIATE ERMETIC).

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

ACEST MEDIU 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

Săruri și ioni	Proteine, hormoni și factori de creștere	Indicator pH
Clorură de sodiu	Ser fetal bovin	Rosu de fenol
Selenit de sodiu	Transferină umană	Vitamine și oligoelemente
Clorură de calciu	Ser neonatal bovin	Acid ascorbic
Clorură de colină	Factor de creștere	Acid folic
Clorură de potasiu	Fibroblastilor (FCF)	Nicotinamidă
Clorură de potasiu	Insulină	Tiamină
Clorură de magneziu	Progesteron	Acid pantotenic
Sulfat de magneziu	Testosteron	Cobalamină
Fosfat de sodiu	Beta-estradiol	Piridoxal
Sulfat feros	Hydrocortizon	Piridoxină
Sulfat de cupru	Apă	
Sulfat de zinc	Calitate WFI	
Solutie tampon	Bicarbonat de sodiu	
Bicarbonat de sodiu	Aminoacizi	
Alanină	Alanină	
Arginină	Arginină	
Asparagină	Hipoxantină	
Acid aspartic	Biotină	
Cisteină	Putresceină	
Cistină	Alcool etilic	
Acid glutamic	Antioxidant	
Glutamină	Acid tiotic	
Glicină	Acizi nucleici	
Histidină	Deoxiadencozină	
Isoleucină	Deoxicitidină	
Leucină	Deoxiguanozină	
Lizină	Adenozină	
Metionină	Citidină	
Fenilalanină	Guanozină	
Prolină	Timidină	
Serină	Uridină	
Treonină	Substraturi energetice	
Triptofan	Glucoză	
Tirozină	Piruvat	
Valină	Inozitol	

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

- Lăsați suplimentul liofilizat CHANG Medium C să se echilibreze la temperatura camerei.
- Folosind tehnici aseptice, adăugați 10 ml sau 50 ml de apă distilată sterică 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.

- 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).
- Transferați aseptice întregul conținut al suplimentului CHANG Medium C reconstituit în flaconul de CHANG Medium B Basal.
- Amestecați bine CHANG Medium C complet prin agitarea flaconului.
- Adăugați L-glutamină, 10,0 ml/l (200 mM). Dacă se dorește, se pot adăuga antibiotice.

Supliment congelat

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

REPARTIZAREA SUPLIMENTULUI 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:

- Reconstituiți suplimentul CHANG Medium C liofilizat.
- Distribuiți aseptice în părți alicote de mărime convenabilă și congelați.
- De asemenea, distribuiți CHANG Medium B Basal într-un număr corespunzător de părți alicote.
- Pentru a prepara CHANG Medium C complet, adăugați o parte alicotă de supliment CHANG Medium C dezghetat la o parte alicotă de CHANG Medium B Basal.
- Amestecați bine.

Supliment congelat

- Dezghetați suplimentul CHANG Medium C congelat.
- Distribuiți aseptice în părți alicote de mărime convenabilă și recongelați. (NOTĂ: Fiola de supliment conține 14 ml sau 70 ml. Distribuiți în mod egal.)
- De asemenea, distribuiți CHANG Medium B Basal într-un număr corespunzător de părți alicote.
- Pentru a prepara CHANG Medium C complet, adăugați o parte alicotă de supliment CHANG Medium C dezghetat la o parte alicotă de CHANG Medium B Basal.
- Amestecați bine.

INSTRUCȚIUNI DE UTILIZARE

pH-UL MEDIULUI UTILIZAT PENTRU HRĂNIREA CULTURILOR TREBUIE SĂ FIE CUPRINS ÎNTRE 6,8 ȘI 7,2 (adică mediul trebuie să aibă o culoare ușor gălbuiie-somon). pH-ul poate fi ajustat cu ușurință punând mediul într-un incubator de 5%-8% CO₂ 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

- Centrifugați lichidul amniotic la viteză redusă pentru a concentra celulele.
- 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 flaconas.
- Incubați culturile fără a le agita la 37°C într-o atmosferă de CO₂ 5%.
- Înundați culturile în ziua 2 prin adăugarea a 2 ml de CHANG Medium C.

- După 4 sau 5 zile, culturile trebuie verificate pentru a se vedea dacă există creștere. Odată ce s-a observat creșterea, culturile trebuie utilizate. 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.
- Controlați culturile pentru a vedea dacă există creștere în/sau după ziua 5 și recoltați atunci când se observă suficiente colonii.
- 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

- Centrifugați lichidul amniotic la viteză redusă pentru a concentra celulele.
- 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.
- Incubați culturile fără a le agita la 37°C într-o atmosferă de CO₂ 5%.
- 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.
- 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.
- 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% CO₂-95% aer timp de 20 secunde. Strângeți capacele flaconelor de cultură și incubați-le la 37°C. (Se recomandă atașarea unei pipete Pasteur sterile astupate la sursa de CO₂ 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 întrebuintarea 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. primärödling av celler i amnionvätska
2. odling av celler från amnionvätska från passage
3. odling av benmärgsceller
4. fast amnionvätska från chorionvillbiopsi.

DETTA MEDIUM HAR UTVECKLATS FÖR ANVÄNDNING I BÅDE ÖPPNA (ODLINGAR EKVILIBRERADE I EN 5 % CO₂-ATMOSFÄR) OCH SLUTNA ODLINGSSYSTEM (ODLINGAR FLODADE MED 5 % CO₂ OCH INKUBERADE MED ODLINGS-KARLEN TÄTT FÖRSLUTNA).

PRODUKTBESKRIVNING

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

KOMPONENTER

Salter och ioner	Proteiner, hormoner samt tillväxtfaktorer	pH-indikator
Natriumklorid	Fetalt bovint serum	Fenolrött
Natriumselenit	(FBS)	<u>Vitaminer och spårämnen</u>
Kalciumklorid	Serum från nyfödda kalvar	Askorbinsyra
Kolklorid	Humant transferrin	Folsyra
Kaliumklorid	Fibroblasttillväxtfaktor (FGF)	Nikotinamid
Kaliumfosfat	Insulin	Riboflavin
Magnesiumklorid	Progesteron	Tiamin
Magnesiumsulfat	Kopparsulfat	Pantotensyra
Natriumfosfat	Zinksulfat	Kobalamin
Ferrosulfat	<u>Buffer</u>	Pyridoxal
Kopparsulfat	Natriumbikarbonat	Pyridoxin
Zinksulfat	<u>Aminosyror</u>	
<u>Buffer</u>	Alanin	
Natriumbikarbonat	Arginin	
<u>Aminosyror</u>	Asparagin	
Alanin	Asparaginsyra	
Arginin	Cystein	
Asparagin	Cystin	
Asparaginsyra	Glutaminsyra	
Cystein	Glutamin	
Cystin	Glycin	
Glutaminsyra	Histidin	
Glutamin	Isoleucin	
Glycin	Leucin	
Histidin	Lysin	
Isoleucin	Metionin	
Leucin	Fenylalanin	
Lysin	Prolin	
Metionin	Serin	
Fenylalanin	Treonin	
Prolin	Tryptofan	
Serin	Tyrosin	
Treonin	Valin	
Tryptofan		
Tyrosin		
Valin		

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 frys 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 frys 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 % CO₂-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 primärkulturer: In situ-metoder

1. Centrifugera amnionvätskan på låg hastighet för att koncentrera cellerna.
2. Resuspendera cellpelletten i en liten volym av patientens egen amnionvätska. Aspirera i.e.x. supernatanten från 10 ml centrifugerad amnionvätska till 0,5 ml ovanför cellpelletten och resuspendera. Tillsätt tillräckligt med CHANG Medium C till den koncentrerade celluspensionen för att möjliggöra en slutlig plattvolym på 0,5 ml per täckglas (totalt 4 täckglas), eller 2 ml per flaskan.
3. Inkubera kulturerna, utan att störa dem, vid 37 °C i 5 % CO₂-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. Basta resultat erhålls när kulturerna tillförs näring med CHANG Medium C dagen innan de skördas.

Användning av CHANG Medium C för primärkulturer: Metoder med flaska

1. Centrifugera amnionvätskan på låg hastighet för att koncentrera cellerna.
2. Resuspendera cellpelletten i en liten volym av patientens egen amnionvätska. Aspirera i.e.x. supernatanten från 10 ml centrifugerad amnionvätska till 1 ml ovanför cellpelletten 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 % CO₂-atmosfär.
4. Kontrollera kulturerna med avseende på växt på dag 5. Byt ut mediet mot färskt CHANG Medium C och skörda om tillräckligt 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. Basta resultat erhålls när kulturerna tillförs näring med CHANG Medium C dagen innan de skördas.

ANM: För slutna system, flusha varje odlingsflaska med 5 % CO₂ – 95 % luft i 20 sekunder. Dra åt locken på odlingsflaskorna och inkubera dem vid 37 °C. (Det rekommenderas att en steril, pluggad pasteuriserat sluts till CO₂-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 nogta 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. Ert 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. Komplet 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.

NAUDOJIMO INDIKACIJĄ

„CHANG Medium C“ terpę galima naudoti šioms paskirtims:

1. amniono skysčio ląstelių pirminė kultūra;
2. auginant perkeltas amniono skysčio ląsteles;
3. kauli čiulpų ląstelių kultūrai;
4. tvirtu amniono audiniui, gautam paėmus chorioninių išaugų (gaurelių) mėginius.

ŠI TERPĖ YRA SKIRTA NAUDOTI ATVIROSE (KULTŪROS STABILIZUOTOS 5% CO₂ ATMOSFEROJE) IR UŽDAROSE KULTŪRŲ SISTEMOSE (KULTŪROS APSEMTOS 5% CO₂ IR LAIKOMOS INKUBATORIJE PATIKIMAI UŽDARIUS KULTŪRŲ INDUS).

ITAISO APRĄŠYMAS

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

SUDEDAMOSIOS DALYS

Druskos ir jonai	Baltymai, hormonai ir augimo faktoriai	Energetiniai substratai
Natrio chloridas	Jaučio embriono kraujo serumas	Glukoze
Natrio selenitas	Cholino chloridas	Piruvatas
Kalcio chloridas	Jaučio naujagimio kraujo serumas	Inozitolis
Magnio chloridas	Žmogaus transferinas	pH indikatorius
Kalio fosfatas	Fibroblasto augimo faktorius (FGF)	Fenolio raudonasis
Magnio chloridas	Insulinas	Vitaminai ir mikroelementai
Magnio sulfatas	Progesteronas	Askorbo rūgštis
Natrio fosfatas	Tetosteronas	Folio rūgštis
Geležies sulfatas	Beta esteradiolis	Riboflavinas
Vario sulfatas	Hidrokorizonas	Tiaminas
Cinko sulfatas	Vanduo	Pantotininė rūgštis
Buteris/ripalas	Injekcinio vandens kokybė	Kobalaminas
Natrio bikarbonatas	Kita	Piridoksalis
Amino rūgštys	Hipoksantinas	Piridoksinas
Alaninas	Biolinas	
Argininas	Putrescinas	
Asparaginas	Etilo alkoholis	
Asparto rūgštis	Antiksidantai	
Cisteinas	Lipo rūgštis	
Cistinas	Nukleino rūgštys	
Glutama rūgštis	Deoksadenozinas	
Glutaminas	Deoksilitinas	
Glicinas	Deoksiguanozinas	
Histidinas	Adenozinas	
Izoleucinas	Citidinas	
Leucinas	Guanozinas	
Lizinas	Timidinas	
Metioninas	Uridinas	
Fenilalaninas		
Prolinas		
Serinas		
Treoninas		
Triptofanas		
Tirozinas		
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, laikintais steriliumo tyrimo protokolu, kuris apibūdinatas pagal šiuo metu patvirtintą Jungtinių Valstijų farmakopėjos sterilumo testą <71>.

PARUOŠIMAS NAUDOTI**Liofilizuotas papildas**

1. Palikite „CHANG Medium C“ liofilizuotą papildą pastovėti, kol taps kambario temperatūros.
2. Taikydami aseptinius metodus, į liofilizatą pridėkite 10 arba 50 ml sterilus 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 inkubatorijoje 37 °C temperatūroje 5–10 minučių, kad papildas visiškai išsirtų).
4. Perkelkite visą atskiesto „CHANG Medium C“ papildu turinį į „CHANG Medium B Basal“ buteliuką, laikydami 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 sukdamai flakoną 37 °C temperatūros vandens vonelėje.
2. Perkelkite visą atšildyto „CHANG Medium C“ papildu turinį į „CHANG Medium B Basal“ buteliuką, laikydami 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 sausuosite ne visą „CHANG Medium C“ terpę, galite pasigiminti mažesnius jos kiekius, laikydami šios modifikuotos procedūros:

1. Atskieskite „CHANG Medium C“ liofilizuotą papildą.
2. Aseptiškai pasiskirstykite 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 pasiskirstykite į patogaus naudoti dydžio alikvotines dalis ir pakartotinai užšaldykite. (PASTABA. Papildo flakonas yra 14 arba 70 ml tūrio. Tolygiai pasiskirstykite.)
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

KULTŪROMS MAITINTI NAUDOJAMOS TERPĖS pH TURI BŪTI 6,8–7,2 (t. y. terpė turi būti gelsvos laišinės spalvos). pH galima lengvai pakoreguoti įdedant terpę į 5–8% CO₂ inkubatorių, siek 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 ląsteles granule nedideliame kiekyje pacientės amniono skysčio. Pavyzdžiui, siurbkite 10 ml supernatanto iš centrifuguoto amniono skysčio, palikdami 0,5 ml virš ląstelių granules, ir resuspenduokite. Pakankamą kiekį „CHANG Medium C“ terpės įlašinkite į koncentruotą ląstelių suspensiją, kad būtų pasiekta galutinis ląstelių tūris – 0,5 ml vienam dengiamajam stiklui (iš viso – 4 dengiamieji stiklai) arba 2 ml vienai flasketei.
3. Kultūras netrukdomai inkubuokite 37 °C temperatūroje 5% CO₂ atmosferoje.
4. 2-ąją dieną apsemitę 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 pasiekima 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 ląsteles granule nedideliame kiekyje pacientės amniono skysčio. Pavyzdžiui, siurbkite 10 ml supernatanto iš centrifuguoto amniono skysčio, palikdami 1 ml virš ląstelių granules, ir resuspenduokite. Įplikite 4 ml „CHANG Medium C“ terpės, kad kiekvienoje kolboje būtų po 5 ml.
3. Kultūras netrukdomai inkubuokite 37 °C temperatūroje 5% CO₂ atmosferoje.
4. 5-ąją dieną patikrinkite augimą. Pakeiskite terpę šviežia „CHANG Medium C“ terpė ir imkite kultūras, jei pastebėjote, kad užauga 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 uždaroiose sistemose, kiekvieną pasėlio flakonėlį 20 sekundžių ekspozuokite 5% CO₂ ir 95% oro mišiniui. Sandariai prisukę dangtelius, flakonėlius su kultūromis inkubuokite 37 °C temperatūroje. (Rekomenduojama prie CO₂ šaltinio prijungti sterilią Pastero pipetę su kamščuku, užtikrinant įeinančių dujų steriliumą.)

„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 atsivėlginti 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.

Konkrečios 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. NESALDYKITE 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:

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

BU VASAT HEM AÇIK (%5 CO₂ ATMOSFERİNDE DENGELENMİŞ KÜLTÜRLER) HEM KAPALI (%5 CO₂ DOLDURULMUŞ VE KÜLTÜR KAPAĞI SIKICA KAPATILMIŞ OLARAK İNKÜBE EDİLMİŞ KÜLTÜRLER) KÜLTÜR SİSTEMLERİYLE KULLANILMAK ÜZERE TASARLANMIŞTIR.
CIHAZ 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

Tuzlar ve İyonlar	Proteinler	pH Göstergesi
Sodyum Klorür	Harmonlar ve Biyome Faktörleri	Fenol kırmızısı
Sodyum Selenit	Fetal siğir serumu (FSS)	Vitaminler ve eser elementler
Kalsiyum Klorür	Yeni doğan siğir serumu	Askorik asit
Kolin Klorür	Potasyum Klorür	Folik asit
Potasyum Klorür	Potasyum Klorür	Nikotinamid
Magnezyum Klorür	Magnezyum Klorür	Riboflavin
Magnezyum Sülfat	Sodyum Fosfat	Tiyamin
Sodyum Fosfat	Ferroz Sülfat	Pantotetik asit
Kuprik Sülfat	Çinko Sülfat	Kobalamin
Tampon	Sodyum Bikarbonat	Piridoksal
Amino Asitler	Sü	Hidrokorlizon
Alanin	Emeksiyonluk	Su
Arjinin	Su Kalitesi	Emeksiyonluk
Asparajin	Diger	Su Kalitesi
Aspartik Asit	Hipoksantin	Diger
Sistein	Biyoitin	Hipoksantin
Sistin	Putresin	Biyoitin
Glutamik Asit	Etili alkol	Putresin
Glutamin	Amioksidan	Etili alkol
Glisin	Tiyoklik asit	Amioksidan
Histidin	Nükleik asitler	Tiyoklik asit
Isozölin	Deoksidenozin	Nükleik asitler
Losin	Deoksisitidin	Deoksidenozin
Lizin	Deoksiyanozin	Deoksisitidin
Metilyonin	Adenozin	Deoksiyanozin
Fenilalanin	Sitidin	Adenozin
Prolin	Guanozin	Sitidin
Serin	Timidin	Guanozin
Treonin	Üridin	Timidin
Triptofan	Enerji Substratları	Üridin
Tirozin	Glukoz	Enerji Substratları
Valin	Piruvat	Glukoz
	Inositol	Piruvat
		Inositol

KALİTE GÜVENCESİ

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

- CHANG Medium C Liyofilize Takviye ürününün oda sıcaklığına dengelenmesini bekleyin.
- Aseptik teknikler kullanarak 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.
- Tüm solüsyonu etkilemek üzere yavaşça çevirin. (NOT: Takviyeyi tamamen çözmek için flakonü 37°C’de 5 - 10 dakika inkübe etmek gerekebilir).
- Sulandırılmış CHANG Medium C Takviye ürününün tüm içeriğini CHANG Medium B Basal şişesi içine aseptik olarak aktarın.

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

CHANG MEDIUM C TAKVİYE

ALİKOTLAMA

Liyoifilize Takviye

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

- CHANG Medium C Liyoifilize Takviye ürününü sulandırın.
- Uygun büyüklükte alikotlara aseptik olarak dağıtın ve dondurun.
- Ayrıca CHANG Medium B Basal ürününü karşılık gelen sayıda alikota aseptik olarak verin.
- Complete CHANG Medium C hazırlamak için bir alikot çözülmüş CHANG Medium C Takviye ürününü bir alikot CHANG Medium B Basal ürününe ekleyin.
- İyice karıştırın.
- Dondurulmuş Takviye**
- CHANG Medium C Dondurulmuş Takviye ürününü çözün.
- Uygun büyüklükte alikotlara aseptik olarak dağıtın ve tekrar dondurun. (NOT: Takviye flakonü 14 mL veya 70 mL içerir. Eşit olarak dağıtın.)
- Ayrıca CHANG Medium B Basal ürününü karşılık gelen sayıda alikota aseptik olarak verin.
- Complete CHANG Medium C hazırlamak için bir alikot çözülmüş CHANG Medium C Takviye ürününü bir alikot CHANG Medium B Basal ürününe ekleyin.
- İyice karıştırın.

KULLANMA TALİMATI

KÜLTÜRLERİ BESLEMEK 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 CO₂ inkübatörüne koyarak kolayca ayarlanabilir. Son pH 6,8 - 7,2 olmalıdır.

Bu ürünlerin kullanımını 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 Kullanım: İn Situ Metodolojiler

- Hücreleri konsantre etmek için amniyotik sıvıyı düşük hızda santrifüleyin.
- Hücre pelletini hastanın kendi amniyotik sıvısının küçük bir miktarında tekrar süspansiyon haline getirin. Örneğin santrifüjlenmiş 10 mL amniyotik sıvının süpernatanıni 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.
- Kültürleri ellemeden 37°C %5 CO₂ atmosferi altında inkübe edin.
- Kültürleri gün 2’de 2 mL CHANG Medium C ekleyerek tamamen sıvıyla örtün.
- Kültürlerin 4 - 5 günden sonra üreme açısından kontrol edilmesi gerekir. Kültürler üreme gözlemlerini sonra beslenmelidir. Kültürleri tüm kültür süpernatanıni alıp yerine 2 mL yeni CHANG Medium C koyarak besleyin. Bundan sonra kültürlerin 2 günde bir beslenmesi önerilir.
- Kültürleri 5. günde veya sonrasında üreme için kontrol edin ve yeterli koloni gözlenince toplayın.
- En iyi sonuçlar kültürlerin toplama öncesi günde CHANG Medium C ile beslenmesiyle alınır.

Primer Kültürler için CHANG Medium C Kullanım: Flask Metodolojileri

- Hücreleri konsantre etmek için amniyotik sıvıyı düşük hızda santrifüleyin.
- Hücre pelletini hastanın kendi amniyotik sıvısının küçük bir miktarında tekrar süspansiyon haline getirin. Örneğin santrifüjlenmiş 10 mL amniyotik sıvının süpernatanıni 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.
- Kültürleri ellemeden 37°C %5 CO₂ atmosferi altında inkübe edin.
- Gün 5’te üreme için kontrol edin. Vasatı yeni CHANG Medium C ile değiştirin ve yeterli hücre üremesi gözlenirse toplayın.
- Kültürlerin üreme durumunu kontrol edin ve bundan sonra yeterli koloni gözlenince ve toplamaya hazır olana kadar iki günde bir vasatı tamamen değiştirin.
- En iyi sonuçlar kültürlerin toplama öncesi günde CHANG Medium C ile beslenmesiyle alınır.

NOT: Kapalı sistemler için her kültür flaskından 20 saniye boyunca %5 CO₂ - %95 hava geçirin. Kültür flasklarının kapaklarını sıkın ve 37°C’de inkübe edin. (Gelen gazın sterilitesini sağlamak üzere CO₂ kaynağına steril tikağı bir Pasteur pipetinin takılması önerilir).

Pasaj Yapılmış Amniyotik Sıvı Hücrelerini Büyütmek için CHANG Medium C kullanımı:

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

SAKLAMA VE STABİLİTE

CHANG Medium C Dondurulmuş Takviye ürününü -10°C altında, CHANG Medium C Liyoifilize Takviye ürününü 2°C ile 8°C arasında, CHANG Medium B Basal ürününü 2°C ile 8°C arasında ve Complete CHANG Medium C ürününü 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 eğitilmiş personelce kullanılması amaçlanmıştır. CHANG Medium C bileşenlerini ayrı etiketlerde belirtilen son kullanma tarihinden sonra kullanmayın.

SLOVENČINA

INDIKÁCIA NA POUŽITIE

CHANG Medium C možno použiť na nasledujúce aplikácie:

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

TOTO MEDIUM BOLO NAVRHNUTÉ NA POUŽITIE V OTVORENÝCH (KULTÚRACH USTÁLENÝCH S ATMOSFÉROU 5 % CO₂) AJ ZATVORENÝCH KULTIVAČNÝCH SYSTÉMOCH (KULTÚRACH ZALIATYCH 5 % CO₂ 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 prenatalných genetických testoch. TÁTO RECEPTÚRA BOLA OPTIMALIZOVANÁ PRE OTVORENÉ AJ ZATVORENÉ SYSTÉMY.

ZLOŽKY

Soli a ióny	Bielkoviny, hormóny a rastové faktory	Indikátor pH
chlorid sodný	fetálne bovinné sérum (FBS)	fenolová červná
selenicit sodný	neonatale bovinné sérum	Vitamíny a stopové prvky
chlorid vápenatý	ľudský transferín	kyselina askorbová
chlorid draselný	fibroblastový rastový faktor (FGF)	kyselina listová
fosforéčan	inzulin	nikotinamid
draselný	progesterón	riboflavin
chlorid horečnatý	testosterón	tiamin
síran horečnatý	beta estradiol	kyselina pantoténová
fosfát sodný	hydrokortizón	kobalamin
síran železnatý	Voda	pyridoxál
síran mediatý	kvalita vody na injekciu	pyridoxín
síran zinečnatý	Iné	
Puffer	hyboxantin	
hydrogėnuhlėitan sodný	biotin	
Aminokyseliny	putrescín	
alanin	asparagin	
arginin	kyselina asparagová	
asparagin	cysteín	
kyselina asparagová	cystín	
cysteín	kyselina glutámová	
cystín	glutamin	
kyselina glutámová	glycín	
glutamin	histidín	
glycín	izoleucín	
histidín	leucín	
izoleucín	lyzín	
leucín	metionín	
lyzín	fenyľalanín	
metionín	prolín	
fenyľalanín	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>.

PRÍPRAVA NA POUŽITIE

Lyofilizovaný doplnok

- Lyofilizovaný doplnok CHANG Medium C nechajte vyteperovať na izbovú teplotu.
- 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.
- 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.)

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

Zmrazený doplnok

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

ALIKVOTOVANÉ CHANG MEDIUM C SUPPLEMENT

Lyofilizovaný doplnok

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

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

- Dobre zamiešajte.

Zmrazený doplnok

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

- Dobre zamiešajte.

NÁVOD NA POUŽITIE

pH MEDIA POUŽITEHO NA ŽIVENIE KULTÚR MUSÍ BYŤ MEDZI 6,8 – 7,2 (t. j. médium musí mať mierne žltó-lososovú farbu). pH možno jednoducho upraviť vložiením média do inkubátora s 5 % – 8 % CO₂ 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: Metodíky in situ

- Plodovú vodu odstreďte pri nízkej rýchlosti, aby sa koncentrovali bunky.
- Bunkovú peletu resuspendujte v malom objeme plodovej vody pacientky. Napríklad aspirujte supernatant 10 ml odstreďenej 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 plátovaci objem 0,5 ml na každé krycie sklíčko (celkom 4 krycie sklíčka) alebo 2 ml na každú fľaštičku.
- Nerušené kultúry inkubujte pri teplote 37 °C v atmosfére 5 % CO₂.
- Druhý deň zalejte kultúry prídánim 2 ml CHANG Medium C.

- Po 4 až 5 dňoch skontrolujte rast na kultúrach. Kultúry treba prizívať, keď sa sporujúce rast. Kultúry prizívte odstránením všetkého supernatantu kultúry a prídánim 2 ml čerstvého CHANG Medium C. Potom sa odporúča kultúry prizívať každé 2 dni.
- Rast na kultúrach skontrolujte okolo 5. dňa a vykonajte zber, keď sporujetejete dostatočné kolónie.
- Najlepšie výsledky sa dosiahnu, keď sú kultúry prizívené CHANG Medium C deň pred zberom.

Použitie CHANG MEDIUM C na primárne kultúry: Metodíky fľaštiček

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

POZNÁMKA: Pri zatvorených systémoch vypláchnite každú fľaštičku na kultúru 5 % CO₂ – 95 % vzduchom 20 sekúnd. Uľahnite vrchnáky na fľaštičkách s kultúrou a inkubujte ich pri teplote 37 °C. (Odporúča sa, aby bola k zdroju CO₂ privedená sterilná zazátkovaná Pasteurova pipeta, aby sa zaislila sterilita prívodu plynu.)

Použitie CHANG MEDIUM C na rast pasážovaných buniek plodovej vody:

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

UCHOVÁVANIE A STABILITA

Zmrazený doplnok CHANG Medium C uchovávajte 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 ďalšie údaje 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 vyškolеныm 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 хорнионни вѝси.
- ТАЗИ СРЕДА Е ПРЕДНАЗНАЧЕНА ЗА ИЗПОЛЗВАНЕ КАКТО В ОТВОРЕНИ (КУЛТУРИ, ЕКВИЛИБРИРАНИ С 5% CO₂ АТМОСФЕРА), ТАКА И В ЗАТВОРЕНИ СИСТЕМИ ЗА КУЛТУРИ (КУЛТУРИ, ЗАЛЕТИ С 5% CO₂ 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 кариотилизиране 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 Човешки трансферин	Пируват
Калциев хлорид	Фибробластен растежен фактор (FGF)	Инозитол
Холин хлорид	Инсулин	pH индикатор
Калиев хлорид	Прогестерон	Фенол, червен Витамини и микроелементи
Калиев фосфат	Тестостерон	Аскорбинова киселина
Магнезиев хлорид	Бета естрадиол	Фолиева киселина
Магнезиев сулфат	Хидрокортизон	Никотинамид
Натриев фосфат	Вода	Рибофлавин
Меден сулфат	Качество – вода за инжектиране	Тиамин
Цинков сулфат	Други	Пантотенова киселина
Буфер	Хипоксантин	Кобаламин
Натриев бикарбонат	Биотин	Пиридоксал
<u>Аминокиселини</u>	Путресцин	Пиридоксин
Аланин	Глутаминова киселина	
Аргинин	Цистеин	
Аспарагин	Цистин	
Аспарагинова киселина	Глутаминова киселина	
Цистеин	Глутамин	
Цистин	Глицин	
Глутаминова киселина	Хистидин	
Глутамин	Изопевцин	
Глицин	Левцин	
Хистидин	Лизин	
Изопевцин	Метионин	
Левцин	Фенилаланин	
Лизин	Проплин	
Метионин	Серин	
Фенилаланин	Тreonин	
Проплин	Триптофан	
Серин	Тирозин	
Тreonин	Валин	
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 пълен 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 реконституирана 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 разклатете 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. Реконституируйте 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.

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 pH 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 pH може лесно да се регулира чрез поставяне на средата в 5% – 8% CO₂ инкубатор с леко разхлабена капачка.

Окончателното pH 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. Центрофугируйте 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% CO₂ атмосфера.
4. В ден 2 залейте 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 захванат. Хранете културите, като отстранявате целия супернатант на културата и го замените с 2 ml прясна CHANG Medium C. Препоръчва се културите да се захванат 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 захванат с CHANG Medium C в деня преди събирането.

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

1. Центрофугируйте 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% CO₂ 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 захванат с CHANG Medium C в деня преди събирането.

ЗАБЕЛЕЖКА: За затворени системи промийте всеки слайд-флакон с култури с 5% CO₂ – 95% въздух за 20 секунди. Затегнете капачките на слайд-флаконите с култури и ги инкубирайте при 37° C. (Препоръчва се да се прикрепи стерилна запушена пипета тип Пастър към източника на CO₂, 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.

HRVATSKI

INDIKACIJE ZA UPOTREBU

CHANG Medium C može se upotrebljavati za sljedeće primjene:

- primarnu kulturu stanica amnijske tekućine
- uzgoj supkultiviranih stanica amnijske tekućine
- kulturu stanica koštane srži
- kruto amnijsko tkivo dobiveno biopsijom korionskih resica.

OVAJ MEDIJ OSMIŠLJEN JE ZA UPOTREBU U OTVORENIM (KULTURE URAVNOTEŽENE ATMOSFEROM OD 5 % CO₂) I ZATVORENIM SUSTAVIMA KULTURA (KULTURE NATOPLJENE S 5 % CO₂ 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.

Soli i ioni	Proteini, hormoni i limbenički rasta	pH indikator
Natrijev klorid	Fetalni govedji serum (FBS)	Fenol crveno
Natrijev selenit	Serum novorođene teladi	Vitamini i elementi u tragovima
Kalcijev klorid	Askorbinska kiselina	Vitamin C
Kolinijev klorid	Folina kiselina	Vitamin B1
Kalijev klorid	Nikotinamid	Riboflavin
Kalijev fosfat	Humani transferin	Tijamin
Magnezijev klorid	Fibrinolizni čimbenik rasta	Pantotenska kiselina
Magnezijev sulfat	(FGF)	Kobalamin
Natrijev fosfat	Beta estradiol	Piridoksal
Željezov sulfat	Inzulin	Piridoksin
Bakrov sulfat	Progesteron	
Cinkov sulfat	Testosteron	
Puter	Beta estradiol	
Natrijev hidrogenkarbonat	Hidrokortizon	
Aminokiseline	Voda	
Alanin	Kvaliteti u skladu s propisanim za vodu za injekcije	
Arginin	Ostalo	
Asparagin	Hipoksantin	
Asparatna kiselina	Cistein	
Cistein	Putrescin	
Cistin	Etilni alkohol	
Glutamatna kiselina	Antioksidans	
Glutamin	Lipoična kiselina	
Glicin	Nukleinske kiseline	
Histidin	Deoksadenozin	
Izoleucin	Deoksicilidin	
Leucin	Deoksigvanozin	
Lizin	Adenozin	
Melatonin	Citidin	
Metilalanin	Gvanozin	
Prolin	Timidin	
Serin	Uridin	
Treonin	Energetski supstrati	
Triptofan	Glukoza	
Tirozin	Piruvat	
Valin	Inozitol	

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. Ogladni 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

- Omogućiti proizvodnu CHANG Medium C Lyophilized Supplement da postigne sobnu temperaturu.
- Primjenjujući aseptičke metode dodati 10 ml ili 50 ml sterine 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.

- 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.)
- Aseptički prenijeti čitav sadržaj rekonstituiranog proizvoda CHANG Medium C Supplement u bocu proizvoda CHANG Medium B Basal.
- Promućkati bocu kako biste dobro izmiješali cjelokupan proizvod CHANG Medium C.
- Dodati L-glutamin, 10,0 ml/l (200 mmol/l). Po želji se mogu dodati antibiotici.

Zamrznuti dodatak

- Brzo odmrznuti proizvod CHANG Medium C Frozen Supplement muckajući bočicu u vodenoj kupelji temperiranoj na 37 °C.
- Aseptički prenijeti čitav sadržaj odmrznutog proizvoda CHANG Medium C Supplement u bocu proizvoda CHANG Medium B Basal.
- Promućkati bocu kako biste dobro izmiješali cjelokupan proizvod CHANG Medium C.
- 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 sljedeći izmijenjeni postupak naveden u nastavku:

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

Zamrznuti dodatak

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

UPUTE ZA UPOTREBU

pH VRIJEDNOST MEDIJA KOJI SE KORISTI ZA HRANJENJE KULTURA MORA BITI IZMEDU 6,8 I 7,2 (tj. medij mora biti čučkasto-ružičaste boje). pH se može jednostavno prilagoditi postavljanjem medija u inkubator s 5 % – 8 % CO₂ u posudi s lagano odvrtnutim 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*

- Centrifugirati amnijsku tekućinu pri maloj brzini kako bi se stanice koncentrirale.
- 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 nasuđivanja od 0,5 ml po pokrovnom stakalcu (ukupno 4 pokrovna stakalca) ili od 2 ml po bočici za kulturu.
- Neometano inkubirati kulture pri 37 °C u atmosferi s 5 % CO₂.

- Drugi dan natopiti kulture dodavanjem 2 ml proizvoda CHANG Medium C.
- 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.
- Peti dan ili nakon petog dana provjeriti rast kultura i prikupiti ih kada bude zabilježena dovoljna količina kolonija.
- 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

- Centrifugirati amnijsku tekućinu pri maloj brzini kako bi se stanice koncentrirale.
- 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.
- Neometano inkubirati kulture pri 37 °C u atmosferi s 5 % CO₂.
- Peti dan provjeriti rast kulture. Zamijeniti medij svježim proizvodom CHANG Medium C i prikupiti kulture ako je zabilježeno dovoljan rast stanica.
- Nakon toga svaki drugi dan provjeravati rast kultura i u potpunosti mijenjati medij dok ne bude zabilježena dovoljna količina kolonija spremnih za prikupljanje.
- 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 % CO₂ – 95 % zraka 20 sekundi. Pritegnuti čepove na tikvicama kultura i inkubirati ih pri 37 °C. (Preporučuje se da se na izvor CO₂ privrčisti 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.

Zaštititi 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

Prevideno 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-UŽU

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

- il-kultura primarja ta' ċelloli tal-fluidu amnijotiku
- it-tkabbir ta' ċelloli sottokultivati tal-fluidu amnijotiku
- il-kultura a' ċelloli tal-mudullun
- tesst amnijotiku solidu minn kampjuni ta' villi korjonici.

DAN IL-MEDIJU ĠIE DDISINJAT GĦALL-UŻU KEMM F'SISTEMI MIFTUĦA (KULTURI EKWILIBRATI B'ATMOSFERA TA' 5% CO₂) KIF UKOLL MAGĦLUQA (KULTURI MGĦARRQA B' 5% CO₂ U INKUBATI BL-GĦOTJIN TAL-KONTENITURI TAL-KULTURI MAGĦLUQIN SEW).

DESKRIZZJONI TAL-APPARAT

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

KOMPONENTI	Imluha u Joni	Proteini, Ormoni u Fakturi ta' Tkabbir	Indikator tal-pH
	Sodium Chloride	Fetal bovine serum (FBS)	Phenol Red
	Sodium Selenite	Serum ta' bovin tal-twelid	Vitamini u mikroelementi
	Calcium Chloride	Potassium Chloride	Ascorbic acid
	Choline Chloride	Potassium Chloride	Folic acid
	Potassium Chloride	Transferin uman	Nicotinamide
	Phosphate	Fattur ta' tkabir tal-fibroblast (FGF)	Riboflavin
	Magnesium Chloride	Insulina	Thiamine
	Magnesium Sulfate	Progesterone	Pantothenic acid
	Sodium Phosphate	Testosterone	Cobalamin
	Ferrous Sulfate	Beta estradiol	Pyridoxin
	Cupric Sulfate	Hydrocortisone	Pyridoxine
	Zinc Sulfate	Bafer	
	Bafer	Sodium Bicarbonate	
	Alanine	Amino Acids	
	Arginine	Putrescine	
	Asparagine	Cysteine	
	Aspartic Acid	Cystine	
	Cysteine	Glutamic Acid	
	Glutamic Acid	Glutamine	
	Glutamine	Glycine	
	Glycine	Histidine	
	Histidine	Isoleucine	
	Isoleucine	Leucine	
	Leucine	Lysine	
	Lysine	Methionine	
	Methionine	Phenylalanine	
	Phenylalanine	Proline	
	Proline	Serine	
	Serine	Threonine	
	Threonine	Tryptophan	
	Tryptophan	Tyrosine	
	Tyrosine	Valine	
	Valine	Inostol	

ASSIGURAZZJONI TAL-KWALITÀ

STERILITÀ

Serum użat fil-produzzjoni ta' CHANG Medium C Supplement ġie ttestjat għall-kontaminazzjoni minn viruses skont CFR Titolu 9 Taqsima 113.53. Ġie skrinjat ukoll għall-kontaminazzjoni minn mikoplażma. 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>.

PREPARRAZZJONI GĦALL-UŻU

Suppliment Liofilizzat

- Falli li CHANG Medium C Lyophilized Supplement jekwilibra mat-temperatura ambjentali.
- Bl-użu ta' tekniċi aseptiċi, žid 10 mL jew 50 L ta' ilma distillat steril mal-ljofilizzat. Il-kunjejt ta' 10 ml huwa għal 90 ml ta' CHANG Medium B Basal; il-kunjejt ta' 50 mL huwa għal 450 mL ta' CHANG Medium B Basal.

- Dawwar il-kunjejt bil-mod sakemm is-soluzzjoni tkun kompluta. (NOTA: Jista' jkun mehtieg li l-kunjejt jiġi inkubat f'temperatura ta' 37°C għal 5 ta 10 minuti sabiex is-suppiment jinhal kompletament).
- Ilttraferi b'mod aseptiku l-kontenut sħiħ taċ-CHANG Medium C Supplement rikostitwit għall-flixxun taċ-CHANG Medium B Basal.
- Hawwad sew iċ-CHANG Medium C komplet billi ddawwar il-flixxun.
- Žid L-Glutamine, 10,0 mL/L (200 mM). Jistgħu jżiedu l-antibjotiċi jekk ikun mixtieq.

Suppliment Iffrizat

- Holl CHANG Medium C Frozen Supplement malajr billi ddawwar il-kunjejt f'banjarumija f'temperatura ta' 37°C.
- Ilttraferi b'mod aseptiku l-kontenut sħiħ mahlul ta' CHANG Medium C Supplement għall-flixxun ta' CHANG Medium B Basal.
- Hawwad sew iċ-CHANG Medium C komplet billi ddawwar il-flixxun.
- Žid L-Glutamine, 10,0 mL/L (200 mM). Jistgħu jżiedu l-antibjotiċi jekk ikun mixtieq.

IL-PREPARRAZZJONI TA' ALIKWOTI TA' CHANG MEDIUM C SUPPLEMENT

Suppliment Liofilizzat

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

- Irrikostitwixxi CHANG Medium C Lyophilized Supplement.
- Qassam b'mod aseptiku f'alikwoti ta' daqs konvenjenti u ffriza.
- B'mod aseptiku wkoll iddispensa ċ-CHANG Medium B Basal f'numru korrispondenti ta' alikwoti.
- 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.

- Hawwad sew.

Suppliment Iffrizat

- Holl CHANG Medium C Frozen Supplement.
- Qassam b'mod aseptiku f'alikwoti ta' daqs konvenjenti u erga' ffriza. (NOTA: Il-kunjejt tas-suppliment fih 14 mL jew 70 mL. Qassam b'mod ugwali.)
- B'mod aseptiku wkoll iddispensa ċ-CHANG Medium B Basal f'numru korrispondenti ta' alikwoti.
- Sabiex ipprepara CHANG Medium C komplut, žid alikwota waħda ta' CHANG Medium C Supplement wara li tinħall ma' alikwota waħda ta' CHANG Medium B Basal.

- Hawwad 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' kultur fit safrani-fis-salamun). Il-pH jista' jiġi aġġustat b'mod hafif billi tpoġġi l-medium ġo inkubatur ta' 5% - 8% CO₂ bit-tapp fit mahlul.

Il-pH finali irid 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 tiegħe.

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

- Iċċentrifuga l-fluidu amnijotiku f'velocità baxxa biex tikkonċentra ċ-ċelloli.
- Erga' s'sospendi l-gerbuba taċ-ċelloli f'volum żgħir tal-fluidu amnijotiku tal-pazjent stess. Pereżempju, aspira s-supernate ta' 10 mL tal-fluidu amnijotiku ċċentrifugat sa 0.5 mL ' fuq mill-gerbuba taċ-ċelloli u erga' s'sospendi. Žid ammont suffiċjenti ta' CHANG Medium C liis-sospensjoni taċ-ċelloli kkonċentrati 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.
- Inkuba l-kulturi mingħajr ċaqliq f'temperatura ta' 37°C f'atmosfera ta' 5% CO₂.
- Għarraġ il-kulturi fit-tieni (2^o) jum billi žżid 2 mL ta' CHANG Medium C.

- Wara 4 jew 5 ijiem, għandu jiġi ċċekkjat kemm kibru l-kulturi. Il-kulturi għandhom jiġu misqija malli jiġi osservat li bdew jikbru. Isqi l-kulturi billi tneħħi s-supernatant kollu tal-kultura u tiddlu b'2 mL ta' CHANG Medium C frisk. Huwa rrakkomandat li mbagħad il-kulturi jiġu misqijin koll jumajm.
- Iċċekkja kemm kibru l-kulturi fil-few wara 1-5 jum meta jiġi osservat numru suffiċjenti ta' kolonji.
- Jinkisbu l-aħjar riżultati meta l-kulturi jiġu misqijin biċ-CHANG Medium C fil-jum ta' qabel il-ħsad.

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

- Iċċentrifuga l-fluidu amnijotiku f'velocità baxxa biex tikkonċentra ċ-ċelloli.
- Erga' s'sospendi l-gerbuba taċ-ċelloli f'volum żgħir tal-fluidu amnijotiku tal-pazjent stess. Pereżempju, aspira s-supernate ta' 10 mL tal-fluidu amnijotiku ċċentrifugat sa 1 mL ' fuq mill-gerbuba taċ-ċelloli u erga' s'sospendi. Žid 4 mL ta' CHANG Medium C għal volum totali ta' 5 mL għal flask.
- Inkuba l-kulturi mingħajr ċaqliq f'temperatura ta' 37°C f'atmosfera ta' 5% CO₂.
- Fi l-5 jum iċċekkja kemm kibru. Biddel il-medium b'CHANG Medium C frisk u aħsad jekk jiġi osservat tkabir suffiċjenti ta' ċelloli.
- Iċċekkja 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.
- Jinkisbu l-aħjar riżultati meta l-kulturi jiġu misqijin biċ-CHANG Medium C fil-jum ta' qabel il-ħsad.

NOTA: Għal sistemi magħluqa, laħlah kull flask tal-kultura b'5% CO₂ - 95% arja għal 20 sekonda. Issikka l-għotjin tal-flasks tal-kulturi u inkubhom f'temperatura ta' 37°C. (Huwa rrakkomandat li titwahhal pipetta Pasteur sterili u magħlqa b'tapp mas-sors tal-CO₂ sabiex tiġi żgurata l-isterilità tal-gass li jkun diehel.)

L-UŻU TA' CHANG Medium C għat-Tkabbir ta' Ċelloli Sottokultivati Tal-Fluidu Amnijotiku:

Għas-sottokultivazzjoni taċ-ċelloli, ittratta l-kulturi bitrypsin (jew pronase, eċċ) bħalma jsir normalment meta ċ-ċelloli jittkabbru f'medium konvenzjonali. Madankollu, it-trattament bil-protease għandu jiġi mmonjotat bir-regqa. Ċelloli tal-fluidu amnijotiku mkabbra f'CHANG Medium C għandhom tendenza li jkunu iktar sensittivi għat-trattament bil-protease minn ċelloli tal-fluidu amnijotiku mkabbra f'medium konvenzjonali. Jista' jkun mehtieg li l-protokoll tiegħek jiġi mmodifikat sabiex jittiehed akkont ta' dan.

HAŻNA U STABILITÀ

Aħžen 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.

Iproteġi minn dawl f'worexentni.

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

TIFFRIZAX CHANG MEDIUM C. KOMPLUT

PREKAWZJONIJET U TWISSIJET

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

Tużaż il-komponenti ta' CHANG Medium C, wara od-datta ta' skadenza indikata fuq il-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 % CO₂) IN ZAPRTIH SISTEMIH ZA GOJENJE KULTUR (KULTURE S 5 % CO₂ 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 ionj</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</u>
Holinoklorid	zarodka (FBS)	<u> elementi v sledovih</u>
Kalijev klorid	Serum	Askorbinska kislina
Kalijev fosfat	novorojenega teleta	Nikotinamid
Magnezijev klorid	Humani transferin	Riboflavin
Magnezijev sulfat	Fibroblastni rastni	Tiamin
Natrijev fosfat	faktor (FGF)	Pantotenska kislina
Železov sulfat	inzulin	Kobalamin
Bakrov sulfat	Progesteron	Piridoksal
Cinkov sulfat	Testosteron	Piridoksin
<u>Pufer</u>	Beta-estradiol	
Natrijev bikarbonat	Hidrokorizon	
<u>Aminokislina</u>	<u>Voda</u>	
Alanin	Kakovost, ki ustrezno	
Arginin	vodi za injekcije	
Asparagin	<u>Drugo</u>	
Asparaginska kislina	Hipoksantin	
Cistein	Biotin	
Cistin	Putrescin	
Glutaminska kislina	Etilni alkohol	
Glutamin	<u>Antikoagulant</u>	
Glicin	<u>Troiklična kislina</u>	
Histidin	<u>Nukleinske kisline</u>	
Izolevcin	Deoksadenozin	
Levcin	Deoksicilidin	
Lizin	Deoksivanozin	
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-mikronska filter. Reprezentativni vzorci medijev CHANG Medium B Basal in CHANG Medium C Supplement so testirani za morebitno bakteriološko kontaminacijo po protokolu za testiranje sterilnosti, opisanim 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 celotni 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 celotni 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 celotnega medija CHANG Medium C, boste morda želeli s tem spremljenim postopkom pripraviti manjše količine:

1. Rekonstituirajte medij CHANG Medium C liofiliziran dodatek.
2. Aseptično ga porazdelite na alikvote 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 alikvote primerne velikosti in ponovno zamrznite. (OPOMBA: Viala z dodatkom vsebuje 14 ml ali 70 ml. Vsebino 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 % CO₂ (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 zadevni 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 preveko krvnih stekelc 0,5 ml na stekelce (skupaj 4 krvna stekelca) ali 2 ml na stekleničko.
3. Nato se morajo kulture nemoteno inkubirati v atmosferi s 5 % CO₂ pri 37 °C.
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 zrastle, 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 % CO₂ 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 % CO₂ in 95 % zraka. Trdno zaprite pokrovčke bučk za kulture in jih inkubirajte pri 37 °C. (Priporočljivo je, da na dovod CO₂ pritrpite sterilno Pasteurjevo pipeto, ki bo zagotavljala sterilnost dovajanja 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 občutljivejšje 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 OPOZORILO

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