

## 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 diagnostički použiti *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* diagnostiliseks kasutamiseks.

*In vitro* diagnostikāi alkalmažazhosh.

Skirta *in vitro* diagnostikai.

*In vitro* diagnostik kullanim için.

Na diagnostické použití *in vitro*.

За *in vitro* диагностична употреба.

Za upotrebu u *in vitro* dijagnostici.

Ghal 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:

- the primary culture of amniotic fluid cells
  - growing passaged amniotic fluid cells
  - the culture of bone marrow cells
  - solid amnion tissue from chorionic villi sampling.
- THIS MEDIUM HAS BEEN DESIGNED FOR USE IN BOTH OPEN (CULTURES EQUILIBRATED WITH A 5% CO<sub>2</sub> ATMOSPHERE) AND CLOSED CULTURE SYSTEMS (CULTURES FLOODED WITH 5% CO<sub>2</sub> AND INCUBATED WITH THE CULTURE VESSELS TIGHTLY CAPPED).

#### DEVICE DESCRIPTION

CHANG Medium C was developed for the primary culture of human amniotic fluid cells for use in karyotyping and other antenatal genetic testing. THIS FORMULA HAS BEEN OPTIMIZED FOR BOTH OPEN AND CLOSED SYSTEMS.

#### COMPONENTS

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

#### 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

- Allow CHANG Medium C Lyophilized Supplement to equilibrate to room temperature.
- 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.
- 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).
- Aseptically transfer the entire contents of the reconstituted CHANG Medium C Supplement to the

bottle of CHANG Medium B Basal.

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

##### Frozen Supplement

- Thaw CHANG Medium C Frozen Supplement rapidly by swirling vial in a 37°C water bath.
- Aseptically transfer the entire contents of the thawed CHANG Medium C Supplement to the bottle of CHANG Medium B Basal.
- Mix the complete CHANG Medium C well by swirling the bottle.
- 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:

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

##### Frozen Supplement

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

##### DIRECTIONS FOR USE

THE pH OF THE MEDIUM USED TO FEED THE CULTURES MUST BE BETWEEN 6.8 - 7.2 (i.e. the medium must be slightly yellowish-salmon color). pH can easily be adjusted by placing the medium in a 5% - 8% CO<sub>2</sub> incubator with the cap slightly loosened. The final pH must be 6.8 - 7.2.

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

##### Use of CHANG Medium C for Primary Cultures: In Situ Methodologies

- Centrifuge amniotic fluid at low speed to concentrate the cells.
- 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.
- Incubate cultures undisturbed at 37°C 5% CO<sub>2</sub> atmosphere.
- Flood cultures on day 2 by adding 2 mL of CHANG Medium C.
- 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.
- Check cultures for growth on/or after day 5, and harvest when sufficient colonies are observed.
- 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

- Centrifuge amniotic fluid at low speed to concentrate cells.
- 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.
- Incubate cultures undisturbed at 37°C 5% CO<sub>2</sub> atmosphere.
- Check for growth on day 5. Change medium with fresh CHANG Medium C and harvest if sufficient cell growth is observed.
- Check cultures for growth and completely change medium every other day thereafter until sufficient colonies are observed and are ready to harvest.
- Best results are obtained when the cultures are fed with CHANG Medium C the day before the harvest.

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

##### Use of CHANG Medium C for Growing Passaged Amniotic Fluid Cells:

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

Note: CHANG Medium C may develop some protein precipitate upon thawing. This protein precipitate is not known to have an effect on product performance.

##### 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.





## PORTUGUÊS

### INDICAÇÃO DE UTILIZAÇÃO

O CHANG Medium C pode ser utilizado nas seguintes aplicações:

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

ESTE MEIO FOI CONCEBIDO PARA SER UTILIZADO EM SISTEMAS DE CULTURA ABERTOS (CULTURAS EQUILIBRADAS COM UMA ATMOSFERA DE 5% DE CO<sub>2</sub>) E SISTEMAS DE CULTURA FECHADOS (CULTURAS INUNDADAS COM 5% DE CO<sub>2</sub> E INCUBADAS COM OS RECIPIENTES DE CULTURA BEM TAPADOS).

### DESCRIÇÃO DO DISPOSITIVO

O CHANG Medium C foi desenvolvido para a cultura primária de células do líquido amniótico humano para utilização na cariotipagem e noutros testes genéticos pré-natais. ESTA FÓRMULA FOI OTIMIZADA TANTO PARA SISTEMAS ABERTOS COMO FECHADOS.

### COMPONENTES

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

### GARANTIA DE QUALIDADE

#### ESTERILIDADE

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

### PREPARAÇÃO PARA UTILIZAÇÃO

#### Suplemento liofilizado

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

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

#### Suplemento congelado

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

### DIVIDIR EM ALÍQUOTAS O SUPLEMENTO CHANG MEDIUM C

#### Suplemento liofilizado

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

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

#### Suplemento congelado

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

### INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

O pH DO MEIO UTILIZADO PARA ALIMENTAÇÃO DAS CULTURAS TEM DE SE SITUAR ENTRE 6,8 E 7,2 (ou seja, a cor do meio tem de ser ligeiramente amarelada a salmão). O ajuste do pH pode ser facilmente efetuado, colocando o meio numa incubadora com 5%–8% de CO<sub>2</sub> com a tampa ligeiramente 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 CO<sub>2</sub>.
4. Inunde as culturas no 2.º dia, adicionando 2 ml de CHANG Medium C.
5. O crescimento das culturas deve ser verificado após 4 a 5 dias. Logo que se observe crescimento, as culturas devem ser alimentadas. Alimente as culturas, removendo todo o sobrenadante da cultura e substituindo-o por 2 ml de CHANG Medium C fresco. Recomenda-se que as culturas sejam alimentadas a cada 2 dias daí em diante.
6. Verifique o crescimento das culturas no 5.º dia ou após esse dia e proceda à colheita quando se observarem colónias suficientes.
7. Os melhores resultados obtêm-se quando as culturas são alimentadas com CHANG Medium C no dia anterior à colheita.

### Utilização do CHANG Medium C para culturas primárias: metodologias em frasco de cultura

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

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

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

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

**Nota:** o CHANG Medium C pode desenvolver algum precipitado proteico após a descongelação. Não se conhecem efeitos deste precipitado de proteínas no desempenho do produto.

### CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE

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

Proteger da luz fluorescente.

Consulte os prazos de validade específicos nos rótulos dos frascos de cada componente. O CHANG Medium C completo pode ser conservado entre 2 °C e 8 °C durante

10 dias antes da utilização, sem que a sua função seja afetada. Não se recomenda um período de conservação superior a 10 dias.

NÃO CONGELE O CHANG MEDIUM C COMPLETO.

### PRECAUÇÕES E ADVERTÊNCIAS

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

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





**INDIKATIONER FOR ANVENDELSE**

CHANG Medium C kan anvendes til følgende applikationer:

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

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

**BESKRIVELSE AF PRODUKTET**

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

**KOMPONENTER**

Salte og ioner	Proteiner, hormoner og vækstfaktorer	pH-indikator
Natriumklorid	Føtal bovint serum (FBS)	Rød fenol
Natriumselenit	Human transferrin	Vitaminer og sporlemetaler
Kalciumklorid	Fibroblastvækstfaktor (FGF)	Ascorbinsyre
Koliniklorid	Insulin	Folinsyre
Kaliumklorid	Progesteron	Nicotinamid
Kaliumfosfat	Cuprisulfat	Riboflavin
Magnesiumklorid	Zinksulfat	Thiamin
Magnesiumsulfat	Butter	Pantothensyre
Natriumfosfat	Natriumbikarbonat	Cobalamin
Jernsulfat	Aminosyrer	Pyridoxal
Cuprisulfat	Alanin	Pyridoxin
Zinksulfat	Arginin	
Butter	Asparagin	
Natriumbikarbonat	Asparaginsyre	
Aminosyrer	Cystein	
Alanin	Cystin	
Arginin	Glutaminsyre	
Asparagin	Glutamin	
Asparaginsyre	Glycin	
Cystein	Histidin	
Cystin	Isoleucin	
Glutaminsyre	Leucin	
Glutamin	Lysin	
Glycin	Methionin	
Histidin	Phenylalanin	
Isoleucin	Prolin	
Leucin	Serin	
Adenosin	Threonin	
Cytidin	Tryptofan	
Guanosin	Tyrosin	
Thymidin	Valin	
Uridin		
Energisubstrater		
Glukose		
Pyruvat		
Inositol		

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

**Frossent supplement**

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

**AFMÅLING AF CHANG MEDIUM C-SUPPLEMENT**

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

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

**Frossent supplement**

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

**BRUGSANVISNING**

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

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 amnionvæske 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 celleduspension til at få en endelig udsåningsvolumen på 0,5 ml pr. dækglas (i alt 4 dækglas) eller 2 ml pr. ampul.
3. Inkuber kulturerne uforstyrret ved 37 °C i en atmosfære med 5 % CO<sub>2</sub>.
4. Skyl kulturerne på dag 2 ved at tilsætte 2 ml CHANG Medium C.
5. Efter 4-5 dage skal kulturerens vækst kontrolleres. Kulturerne skal næres, når der er observeret vækst. Dette gøres ved at fjerne hele kultursupernatanten og erstatte den med 2 ml friskt CHANG Medium C. Det anbefales, at kulturerne næres hver anden dag herefter.

6. Kontroller kulturerens vækst på/eller efter dag 5, og høst, når der observeres nok kolonier.
7. De bedste resultater opnås, hvis kulturerne forsynes med CHANG Medium C dagen inden høsten.

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

1. Centrifuger amnionvæske 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 % CO<sub>2</sub>.
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 % CO<sub>2</sub> - 95 % luft i 20 sekunder. Luk låget tæt til på dyrkningskolberne, og inkuber ved 37 °C. (Det anbefales at slutte en steril Pasteurpipette med hætte til CO<sub>2</sub>-kilden for at sikre, at den indgående gas er steril).

**Anvendelse af CHANG Medium C til dyrkning af passerede amnionvæskeceller:**

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

**Bemærk:** CHANG Medium C kan udvikle proteinudfældning ved optøning. Denne proteinudfældning har ikke nogen kendt indvirkning på produktets ydeevne.

**OPBEVARING OG STABILITET**

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

Beskyttes mod fluorescerende lys.

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

**COMPLETE CHANG MEDIUM C MÅ IKKE NEDFRYSES. FORHOLDSREGLER OG ADVARSLER**

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

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



## 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 beenmergcellen
4. vast amnionweefsel van een chorionvillusbiopsie.

DIT MEDIUM IS BEDOELD VOOR GEBRUIK IN ZOWEL OPEN (KWEKEN DIE ZIJN GEEQUILIBREERD MET EEN 5% CO<sub>2</sub>-ATMOSFEER) ALS GESLOTEN KWEKESYSTEMEN (KWEKEN DIE VOLLEDIG BEDEKT ZIJN MET 5% CO<sub>2</sub> EN GEÏNCUBEERD IN GOED AFGESLOTEN KWEEKFLESSEN).

### BESCHRIJVING VAN HET HULPMIDDEL

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

### COMPONENTEN

Zouten en ionen	Eiwitten, hormonen en groeifactoren	pH-indicator
Natriumchloride	Foetaal	Fenolrood
Natriumseleniet	runderserum (FBS)	Vitaminen en sporelementen
Calciumchloride	Pasgeboren	Ascorbinezuur
Cholinechloride	kalfserum	Foliumzuur
Kaliumchloride	Menselijk transferrine	Nicotinamide
Kaliumfosfaat	Fibroblast	Riboflavine
Magnesiumchloride	groeifactor (FGF)	Thiamine
Magnesiumsulfaat	Natriumfosfaat	Pantotheenzuur
Natriumfosfaat	Ferrosulfaat	Cobalamin
Cuprisulfaat	Cuprisulfaat	Pyridoxaal
Zinksulfaat	Testosteron	Pyridoxine
Buffer	Bêta-oestradiol	
Natriumbicarbonaat	Hydrocortison	
<u>Aminozuren</u>	Water	
Alanine	Farmaceutisch kwaliteitswater	
Arginine	(WFI)	
Asparagine	<u>Overige</u>	
Asparaginezuur	Hypoxanthine	
Cysteine	Biotine	
Cystine	Putrescine	
Glutaminezuur	Ethylalcohol	
Glutamine	<u>Antioxidant</u>	
Glycine	Alfa-liponzuur	
Histidine	<u>Nucleïnezuren</u>	
Isoleucine	Deoxyadenosine	
Leucine	Deoxycytidine	
Lysine	Deoxyguanosine	
Methionine	Adenosine	
Fenylalanine	Cytidine	
Proline	Guanosine	
Serine	Thymidine	
Treonine	Uridine	
Tryptofaan	<u>Energie substraten</u>	
Tyrosine	Glucose	
Valine	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 sterilitiestestprotocol beschreven in de huidige Amerikaanse Farmacopee (USP) sterilitiestest <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.

### GBRUIKSAANWIJZING

DE pH VAN HET MEDIUM DAT WORDT GEBRUIKT OM DE KWEK TE VOEDEN, MOET TUSSEN 6,8 EN 7,2 LIGGEN (d.w.z. dat het medium een enigszins gelijke zalmkleur moet hebben). De pH-waarde kan eenvoudig worden aangepast door het medium met een iets losgedraaide dop in een 5%-8% CO<sub>2</sub>-incubator te plaatsen.

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

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

### Gebruik van CHANG Medium C voor primaire kweken: in situ-methode

1. Centrifugeer het vruchtwater op lage snelheid om de cellen te concentreren.
2. Resuspendeer de celpellet in een kleine hoeveelheid eigen vruchtwater van de patiënt. Voorbeeld: Aspireer het supernatant van 10 ml gecentrifugeerd vruchtwater tot 0,5 ml boven de celpellet en resuspendeer. Voeg voldoende CHANG Medium C aan de geconcentreerde celsuspensie toe tot een eindvolume van 0,5 ml per dekglasje (4 dekglasjes in totaal) of 2 ml per flesje is verkregen.
3. Zet de kweken ongestoord in de incubator bij 37 °C en 5% CO<sub>2</sub>-atmosfeer.
4. Bedek de kweken op dag 2 volledig door 2 ml CHANG Medium C toe te voegen.

5. Controleer na 4 à 5 dagen of de kweken zijn gegroeid. Nadat is vastgesteld dat de kweken groeien, moeten ze worden gevoed. Voed de kweken door al het 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 koloniën worden waargenomen.
7. De beste resultaten worden verkregen als de kweken op de dag vóór het oogsten met CHANG Medium C worden gevoed.

### Gebruik van CHANG Medium C voor primaire kweken: flesmethode

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

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

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

Passeer de cellen door de kweken met trypsine (of pronase etc.) te behandelen, zoals u dat normaal gesproken zou doen bij cellen die in een traditioneel medium gekweekt zijn. Proteasebehandeling dient echter zorgvuldig in de gaten te worden gehouden. Vruchtwatercellen die in CHANG Medium 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.

NB: Bij het ontdooien zal Chang Medium C mogelijk wat eiwitneerslag vormen. Deze eiwitneerslag heeft voor zover bekend geen invloed op de prestaties van het product.

### BEWAREN EN STABILITEIT

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

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





**INDIKATIONER**

CHANG Medium C kan användas för följande tillämpningar:

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

**PRODUKTBESKRIVNING**

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

**KOMPONENTER**

Salter och joner	Proteiner, hormoner samt tillväxtfaktorer	pH-indikator
Natriumklorid	Fetalt bovint serum	Fenolrött
Natriumselenit	Vitaminer och spårämnen	Vitaminer och spårämnen
Kalciumklorid	(FBS)	Askorsbinorid
Kolinklorid	Serum från nyfödda kalvar	Folsyra
Kaliumklorid	Humant transferrin	Nikotinamid
Kaliumfosfat	Fibroblasttillväxtfaktor (FGF)	Riboflavin
Magnesiumklorid	Insulin	Tiamin
Magnesiumsulfat	Progesteron	Pantotensyra
Natriumfosfat	Testosteron	Kobalamin
Ferrosulfat	Betaoestradiol	Pyridoxal
Koppersulfat	Hydrokortison	Pyridoxin
Zinksulfat	Vatten	
Buffert	Vatten för injektion (WFI)	
Natriumbikarbonat	Övrigt	
Aminosyror	Hypoxantin	
Alanin	Biotin	
Arginin	Putrescin	
Asparagin	Etylalkohol	
Asparaginsyra	Antioxidant	
Cystein	Tioctinsyra	
Cystin	Nukleinsyror	
Glutaminsyra	Deoxiadenosin	
Glutamin	Deoxicytidin	
Glycin	Deoxyguanosin	
Histidin	Adenosin	
Isoleucin	Cytidin	
Leucin	Guanosin	
Lysin	Tymin	
Metionin	Uridin	
Fenylalanin	Energisubstrat	
Prolin	Glukos	
Serin	Pyruvat	
Treonin	Inositol	
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 steriliserat 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 % CO<sub>2</sub>-inkubator med locket något lossat. Det slutliga pH-värdet måste vara 6,8–7,2.

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

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

1. Centrifugera amniovätskan på låg hastighet för att koncentrera cellerna.
2. Resuspendera cellpelletten i en liten volym av patientens egen amniovätska. Aspirera t.ex. supernatanten från 10 ml centrifugerad amniovätska 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 flaska.
3. Inkubera kulturerna, utan att störa dem, vid 37 °C i 5 % CO<sub>2</sub>-atmosfär.
4. Flöda kulturerna på dag 2 genom att tillsätta 2 ml CHANG Medium C.
5. Efter 4–5 dagar bör kulturerna kontrolleras med avseende på växt. Näring bör tillföras till kulturerna så snart växt har observerats. Tillför näring till kulturerna genom att avlägsna all supernatant från kulturen och ersätta den med 2 ml färskt CHANG Medium C. Det rekommenderas att därefter tillföra näring till kulturerna varannan dag.

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

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

1. Centrifugera amniovätskan på låg hastighet för att koncentrera cellerna.
2. Resuspendera cellpelletten i en liten volym av patientens egen amniovätska. Aspirera t.ex. supernatanten från 10 ml centrifugerad amniovätska 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 % CO<sub>2</sub>-atmosfär.
4. Kontrollera kulturerna med avseende på växt på dag 5. Byt ut mediet mot färskt CHANG Medium C och skörda om 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. Bästa resultat erhålls när kulturerna tillförs näring med CHANG Medium C dagen innan de skördas.

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

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

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

ANM: Vid upptining av Chang Medium C kan en viss mängd proteinfällning bildas. Sådan proteinfällning har inte visats utöva någon effekt på produktens funktion.

**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 FRYNAS.

**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.



## LIEUVIŲ K.

### NAUDOJIMO INDIKACIJA

„CHANG Medium C“ terpę galima naudoti šioms paskirtims:

1. amniono skysčio ląstelių pirminei kultūrai;
2. auginant perkeltas amniono skysčio ląsteles;
3. kaulų čiulpų ląstelių kultūrai;
4. tvirtino amnionui, gaunamam per chorioninių išaugų (gaurėlių) mėginus.

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

### ĮTAISO APRAŠYMAS

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

### SUDEDAMOSIOS DALYS

<b>Druskos ir jonai</b>	<b>Baltymai, hormonai ir augimo faktoriai</b>	<b>Energetiniai substratai</b>
Natrio chloridas	Jaucio embriono kraujo serumas	Glukozė
Natrio selenitas	Kalcio chloridas	Piruvatas
Kalcio chloridas	Kalio chloridas	Inozitolis
Kalio chloridas	Jaucio naujagimio kraujo serumas	pH indikatorius
Kalio fosfatas	Žmogaus transferinas	Fenolio raudonasis
Magnio chloridas	Žmogaus transferinas	<b>Vitaminai ir mikroelementai</b>
Magnio sulfatas	Fibroblasto augimo faktorius (FGF)	Askorbo rūgštis
Natrio fosfatas	Insulinas	Folio rūgštis
Geležies sulfatas	Progesteronas	Nikotinamidas
Vario sulfatas	Testosteronas	Riboflavinas
Cinko sulfatas	Beta estradiolis	Tiaminas
<b>Buferiniai tirpalai</b>	Hidrokorizonas	Pantotėninė rūgštis
Natrio bikarbonatas	<b>Vanduo</b>	Kobalaminas
<b>Amino rūgštys</b>	Injekcinio vandens kokybė	Piridoksalis
Alaninas	<b>Kita</b>	Piridoksinas
Argininas	Hipoksantinas	
Asparaginas	Biotinas	
Asparto rūgštis	Putrescinas	
Cisteinas	Etilo alkoholis	
Cistinas	<b>Antioksidantai</b>	
Glutamo rūgštis	Lipo rūgštis	
Glutaminas	<b>Nukleino rūgštys</b>	
Glicinas	Deoksிடiazinas	
Histidinas	Deoksiguanozinas	
Izoleucinas	Lizinas	
Leucinas	Adenozinas	
Lizinas	Deoksicitidinas	
Melioninas	Guanozinas	
Fenilalaninas	Timidinas	
Prolinas	Uridinas	
Serinas		
Treoninas		
Triptofanas		
Tirozinas		
Valinas		

### KOKYBĖS UŽTIKRINIMAS

#### STERILUMAS

„CHANG Medium C“ terpės 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“ papildai tipiniai mėginiai yra ištiriami dėl galimo užteršimo bakterijomis, laikantis sterilumo tyrimo protokolo, kuris apibūdintas pagal šiuo metu patvirtintą Jungtinių Valstijų farmakopėjos sterilumo testą <71>.

### PARUOŽIMAS NAUDOTI

#### Liofilizuotas papildas

1. Pakelite „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 flakonys yra skirtas 90 ml „CHANG Medium B Basal“; 50 ml flakonys – 450 ml „CHANG Medium B Basal“.
3. Švelniai pasukinkite flakoną, kad tirpalas susimaišytų. (PASTABA. Flakoną gali reikėti palaikyti inkubatorijoje 37 °C temperatūroje 5–10 minučių, kad papildas visiškai ištirptų).
4. Perkelkite visą atskiesto „CHANG Medium C“ papildu turinį į „CHANG Medium B Basal“ buteliuką, taikydami aseptinius metodus.

5. Sukdami buteliuką gerai sumaišykite „CHANG Medium C“.
6. Pridėkite L-glutamino – 10,0 ml/l (200 mM). Jei pageidaujama, galima pridėti antibiotikų.

#### Sušaldytas papildas

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

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

##### Liofilizuotas papildas

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

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

##### Sušaldytas papildas

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

### NAUDOJIMO NURODYMAI

KULTŪROS MAITINTI NAUDOJAMOS TERPĖS pH TURI BŪTI 6,8–7,2 (t. y. terpė turi būti gelsvos lašišinės spalvos). pH galima lengvai pakoreguoti įdedant terpę į 5–8% CO<sub>2</sub> inkubatorių, 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 ląstelių granulę nedideliame kiekyje pacientės amniono skysčio. Pavyzdžiui, siurbkite 10 ml supernatanto iš centrifuguoto amniono skysčio, palikdami 0,5 ml virš ląstelių granulės, ir resuspenduokite. Pakankamą kiekį „CHANG Medium C“ terpės įlašinkite į koncentruotą ląstelių suspensiją, kad būtų pasiektas galutinis lėkštelės tūris – 0,5 ml vienam dengiamajam stikleliui (iš viso – 4 dengiamieji stikleliai) arba 2 ml vienai flaketei.
3. Kultūras netrukdomai inkubuokite 37 °C temperatūroje 5% CO<sub>2</sub> atmosferoje.
4. 2-ąją dieną apsemkite kultūras, pridėdami 2 ml „CHANG Medium C“ terpės.
5. Po 4–5 dienų kultūras reikia patikrinti, ar auga. Pastebėjus, kad kultūros auga, jas reikia maitinti. Maitinkite kultūras pašalindami visą kultūros paviršinį sluoksnį ir pakeisdami terpę į 2 ml šviežios „CHANG Medium C“ terpės. Vėliau rekomenduojama kultūras maitinti kas 2 dienas.

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

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

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

PASTABA. Kultivuodami uždarosiose sistemose, kiekviena pasėlio flakonėli 20 sekundžių eksponuokite 5% CO<sub>2</sub> ir 95% oro mišiniui. Sandariai prisukę dangtelius, flakonėlius su kultūromis inkubuokite 37 °C temperatūroje. (Rekomenduojama prie CO<sub>2</sub> šaltinio prijungti steriųjų Pastero pipetų su kamščiu, užtikrinant jeinančių 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 irpatinėje 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 protokola, kad galėtumėte atsivelti į šį faktą.

**Pastaba.** Atitirpinus „Chang Medium C“ terpėje gali susidaryti tam tikrų baltymų nuosėdų. Nežinoma, ar šios baltymų nuosėdos turi įtakos produkto veikimui.

#### 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 individualiu suvedamųjų dalių etiketėse. Visą „CHANG Medium C“ galima laikyti 2–8 °C temperatūroje 10 dienų – per šį laiką jos savybės nepakinta. Nerekomenduojama laikyti ilgiau kaip 10 dienų.

#### NEŠALDYKITE VISOS „CHANG MEDIUM C“.

#### ATSARGUMŲ PRIEMONĖS IR ĮSPĖJIMAI

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

Nenaudokite „CHANG Medium C“ suvedamųjų dalių pasibaigus etiketėse nurodytai galiojimo pabaigos datai.





## БЪЛГАРСКИ

### ПОКАЗАНИЯ ЗА УПОТРЕБА

CHANG Medium C може да се използва за следните приложения:

1. първична култура на клетки от амниотична течност,
  2. растящи пасажни клетки от амниотична течност,
  3. култура от клетки на костен мозък,
  4. твърда амнионна тъкан от проба на хорионни вџси.
- ТАЗИ СРЕДА Е ПРЕДНАЗНАЧЕНА ЗА ИЗПОЛЗВАНЕ КАКТО В ОТВОРЕНИ (КУЛТУРИ, ЕКВИЛИБРИРАНИ С 5% CO<sub>2</sub> АТМОСФЕРА), ТАКА И В ЗАТВОРЕНИ СИСТЕМИ ЗА КУЛТУРИ (КУЛТУРИ, ЗАЛЕТИ С 5% CO<sub>2</sub> И ИНКУБИРАНИ С ПЛЪТНО ЗАТВОРЕНИ СЪДОВЕ НА КУЛТУРИТЕ).

### ОПИСАНИЕ НА ИЗДЕЛИЕТО

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

### КОМПОНЕНТИ

Соли и йони	Протеини, хормони и растежни фактори	Енергийни субстрати
Натриев хлорид	Натриев селенит	Калиев хлорид
Калиев хлорид	Холин хлорид	Калиев хлорид
Калиев фосфат	Магнезиев хлорид	Магнезиев сулфат
Натриев фосфат	Железен сулфат	Меден сулфат
Цинков сулфат	Буфер	Натриев бикарбонат
<u>Аминокиселини</u>	Аланин	Аргинин
Аспарагин	Аспарагинова киселина	Цистеин
Цистин	Глутаминова киселина	Глицин
Хистидин	Изозлеucin	Левцин
Лизин	Метионин	Фенилаланин
Пролин	Серин	Тreonин
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 (Фармакопейата 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 реконституирания CHANG Medium C Supplement в бутилката на CHANG Medium B Basal.
  5. Смесете добре пълната среда CHANG Medium C, като разклатите с кръгови движения бутилката.
  6. Добавете L-глутамин, 10,0 ml/l (200 mM). По желание могат да бъдат добавени антибиотици.

#### Замразен суплемент

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

### АЛИКВОТИРАНЕ НА CHANG MEDIUM C SUPPLEMENT

#### Лиофилизиран суплемент

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

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

#### Замразен суплемент

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

### УКАЗАНИЯ ЗА УПОТРЕБА

НИВОТО НА 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-розово-оранжев цвят). Ниво на pH може лесно да се регулира чрез поставяне на средата в 5% – 8% CO<sub>2</sub> 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. Центрофугирайте амниотичната течност при ниска скорост, за да концентрирате клетките.
2. Ресуспендирайте пелетата от клетки в малък обем амниотична течност от самия пациент.

- Например аспирирайте супернатанта на 10 ml центрофугирана амниотична течност до 0,5 ml над пелетата от клетки и ресуспендирайте. Добавете достатъчно CHANG Medium C към концентрираната суспензия на клетки, за да остане окончателен обем за нанасяне от 0,5 ml на покривно стъкло (общо 4 покривни стъкла) или 2 ml на слайд-флакон.
3. Инкубирайте културите в покой при 37° C, 5% CO<sub>2</sub> атмосфера.
  4. В ден 2 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 захранват. Хранете културите, като отстранявате целия супернатант на културата и го заменяте с 2 ml прясна CHANG Medium C. Препоръчва се културите да се захранват на всеки 2 дни след това.

6. Проверете културите за растеж във или след ден 5 и съберете, когато се наблюдават достатъчно колонии.
7. Най-добри резултати се постигат, когато културите се захранват с CHANG Medium C в деня преди събирането.

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

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

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

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

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

**Забележка:** При размразяване в Chang Medium C може да се образува известно количество протеинов преципитат. Няма данни този протеинов преципитат да влияе върху ефективността на продукта.

### 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.

Вижете 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 ЗАМРАМЯВАЙТЕ ПЪЛНАТА СРЕДА CHANG MEDIUM C.**

**ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ И ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ**  
Това изделие е предназначено да се използва от персонал, обучен в процедурите, които включват планираното приложение, за което изделието е предназначено.

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



**INDIKACIJE ZA UPORABO**

Medij CHANG Medium C se lahko uporablja za naslednje aplikacije:

1. primarna kultura celic amnijske tekočine,
  2. gojene pasażirane celice amnijske tekočine,
  3. kultura celic kostnega mozga,
  4. trdno amnijsko tkivo iz vzorcev horionskih resic.
- TA MEDIJ JE ZASNOVAN ZA UPORABO V ODPRTIH (KULTURE, URAVNOTEŽENE V ATMOSFERI S 5 % CO<sub>2</sub>) IN ZAPRTIH SISTEMIH ZA GOJENJE KULTUR (KULTURE S 5 % CO<sub>2</sub> IN INKUBIRANE V TRDNO ZAPRTIH POSODAH).

**OPIS PRIPOMOČKA**

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

**KOMPONENTE**

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

**ZAGOTAVLJANJE KAKOVOSTI****STERILNOST**

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

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

1. Počakajte, da medij CHANG Medium C liofiliziran dodatek doseže sobno temperaturo.
2. Za aseptično tehniko liofiliziran dodatek 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 skajate, da se vsebina popolnoma raztopi. (OPOMBA: Morda bo treba vialo inkubirati pri 37 °C od 5 do 10 minut, da se dodatek popolnoma raztopi).

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

**Zamrznjen dodatek**

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

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

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

1. Rekonstituirajte medij CHANG Medium C liofiliziran dodatek.
2. Aseptično ga porazdelite na 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 oddaljenega medija CHANG Medium C Supplement dodate enemu alikvotu medija CHANG Medium B Basal.
5. Dobro premešajte.

**Zamrznjen dodatek**

1. Oddatite 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. Vsebinsko enakomerno porazdelite.)
3. Tudi medij CHANG Medium B Basal aseptično razdelite na ustrezno število alikvotov.
4. Celovit medij CHANG Medium C pripravite tako, da en alikvot oddaljenega 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 prilagode tako, da medij postavite v inkubator s 5–8 % CO<sub>2</sub> (pokrovček naj bo nekoliko priprt). Končni pH mora biti 6,8–7,2.

Dodatne podrobnosti o uporabi teh izdelkov določajo notranji laboratorijski postopki in protokoli vsakega laboratorija, ki so bili posebej razviti in optimizirani za 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 bolnišnične 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 suspensijo dodajte dovolj medija CHANG Medium C, da dobite končni volumen za prevleko krovnih stekelc 0,5 ml na stekelce (skupaj 4 krovna stekelca) ali 2 ml na stekleničko.
3. Nato se morajo kulture nemoteno inkubirati v atmosferi s 5 % CO<sub>2</sub> pri 37 °C.
4. 2. dan kulture zalijete 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 za bučkami**

1. Centrifugirajte amnijsko tekočino pri nizki hitrosti, da koncentrirate celice.
2. Ponovno suspendirajte celično usedlino v majhnem volumnu bolnišnične lastne amnijske tekočine. Lahko na primer aspirirate supernatant 10 ml centrifugirane amnijske tekočine na raven 1 ml nad celično usedlino in ponovno suspendirate. Dodajte 4 ml medija CHANG Medium C, da dobite celotni volumen 5 ml na bučko.
3. Nato se morajo kulture nemoteno inkubirati v atmosferi s 5 % CO<sub>2</sub> pri 37 °C.
4. Na 5. dan preverite rast. Medij zamenjajte s svežim medijem CHANG Medium C in spravite celice, če opazite zadostno rast.
5. V nadaljevanju vsak drugi dan preverite rast kultur in zamenjajte medij v celoti, dokler ne opazite, da je dovolj kolonij pripravljenih, da jih lahko spravite.
6. Rezultat bo najboljši, če kulture nahranite z medijem CHANG Medium C en dan, preden jih spravite.

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

**Uporaba medija CHANG Medium C za gojene pasażirane celice amnijske tekočine:**

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

**Opomba:** Ob odajanju medija Chang Medium C se lahko izloči manjša količina oborine beljakovin. Ni znano, da bi ta beljakovinska oborina vplivala na uporabnost izdelka.

**SHRANJEVANJE IN STABILNOST**

Medij CHANG Medium C zamrznjen dodatek shranjujte 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 ZAMRZNI.

**PREVIDNOSTNI UKREPI IN OPOZORILA**

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