

CHANG Medium *In Situ*

For Human Amniotic Fluid Cells

Catalog No. T104

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-diagnostiskt*.

In vitro-diagnostiikan.

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 diagnostiseks kasutamiseks.

In vitro diagnostikai alkalmazáshoz.

Skirta *in vitro* diagnostikal.

In vitro diagnostik kullanım için.

Na diagnostické použíte *in vitro*.

Za *in vitro* diagnostična upotreba.

Za upotrebu u *in vitro* dijagnostici.

Ghal už 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 below -10°C



Do not resterilize



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 *In Situ* may be used for the following applications:

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

This medium has been designed for use in CO_2 incubators (cultures equilibrated with 5%-8% CO_2 atmosphere).

DEVICE DESCRIPTION

CHANG Medium *In Situ* 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 *In Situ* methodologies.

COMPONENTS

Amino Acids	Potassium Phosphate
Alanine	Calcium Chloride
Arginine	Magnesium Sulfate
Asparagine	Choline Chloride
Aspartic Acid	Magnesium Chloride
Cysteine	Sodium Selenite
Cystine	Cupric Sulfate
Glutamic Acid	Ferrous Sulfate
Glutamine	Zinc Sulfate
Glycine	Proteins, Hormones, and Growth Factors
Histidine	Fetal Bovine Serum
Isoleucine	Newborn Bovine Serum
Leucine	Fibroblast Growth Factor (FGF)
Lysine	Transferrin
Methionine	Insulin
Phenylalanine	Progesterone
Proline	Testosterone
Serine	B-Estradiol
Threonine	Hydrocortisone
Tryptophan	Nucleic acids
Tyrosine	Cytidine
Valine	Sodium Bicarbonate
Buffer	Deoxyadenosine
	Vitamins and trace elements
	Deoxyguanosine
Biotin	Biotin
Riboflavin	Deoxyuridine
Ascorbic Acid	Guanosine
Folic Acid	Thymidine
Nicotinic Acid	Uridine
Pantothenic Acid	Adenosine
Pyridoxal	Hypoxanthine
Pyridoxine	Antioxidant
Thiamine	Thioclic Acid
Vitamin B12	Others
Energy Substrates	Ethyl Alcohol
Glucose	Putrescine
Inositol	
Pyruvate	
pH Indicator	
Phenol Red	
Salts & Ions	
Sodium Chloride	
Potassium Chloride	
Sodium Phosphate	

QUALITY ASSURANCE

STERILITY

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

PREPARATION FOR USE

1. Thaw CHANG Medium *In Situ* rapidly by swirling bottle in a 37°C water bath.
2. Antibiotics may be added if desired.

ALIQUOTING CHANG MEDIUM *In Situ*

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

DIRECTIONS FOR USE

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_2 incubator with the cap slightly loosened for about 30 minutes.

The final pH must be 6.8-7.2.

Use of CHANG Medium *In Situ* 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 *In Situ* to the concentrated cell suspension to allow for final plating volume of 0.5 mL per cover slip (total of 4 coverslips) or 2 mL per flaskette.
3. Incubate cultures undisturbed at 37°C 5%-8% CO_2 atmosphere.
4. Flood cultures on day 2 by adding 2 mL of CHANG Medium *In Situ*.
5. After 4 to 5 days, the cultures should be checked for growth. Cultures should be fed once growth has been observed. Feed cultures by removing all of the culture supernatant and replacing with 2 mL fresh CHANG Medium *In Situ*. 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 *In Situ* the day before the harvest.

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

STORAGE AND STABILITY

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

Protect from fluorescent light.

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

PRECAUTIONS AND WARNINGS

This device is intended to be used by staff trained in procedures that include the indicated application for which the device is intended.

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

Do not use CHANG Medium *In Situ* beyond the expiration date indicated on the label.



FUJIFILM Irvine Scientific, Inc.

2511 Daimler Street, Santa Ana, California 92705 USA

Telephone: 1 949 261 7800 • 1 800 437 5706 • Fax: 1 949 261 6522 • www.irvinesci.com

© 2023 FUJIFILM Irvine Scientific, Inc. All rights reserved. The FUJIFILM Irvine Scientific logo and CHANG Medium are trademarks of FUJIFILM Irvine Scientific, Inc. in various jurisdictions.

Effective Date: 31-JUL-2023

DEUTSCH

INDIKATIONEN

- CHANG Medium *In Situ* kann für die folgenden Anwendungen verwendet werden:
1. Primärkultur von Fruchtwasserzellen
 2. Wachsende passagierte Fruchtwasserzellen
 3. Festes Amniongewebe aus einer Chorionzottenbiopsie

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

PRODUKTBESCHREIBUNG

Das CHANG Medium *In Situ* wurde für die Primärkultur von menschlichen Fruchtwasserzellen zur Verwendung bei der Karyotypisierung und für andere pränatale genetische Tests entwickelt. Diese Zusammensetzung wurde für In-situ-Methoden optimiert.

INHALTSSTOFFE

Aminosäuren	Salze und Ionen
Alanin	Natriumchlorid
Arginin	Kaliumchlorid
Asparagin	Natriumphosphat
Asparaginsäure	Kaliumphosphat
Cystein	Calciumchlorid
Cystin	Magnesiumsulfat
Glutaminsäure	Cholinchlorid
Glutamin	Magnesiumchlorid
Glycin	Natriumselenit
Histidin	Kupfersulfat
Isoleucin	Eisensulfat
Leucin	Zinksulfat
Lysin	Proteine, Hormone und Wachstumsfaktoren
Methionin	Fetales Kalberserum
Phenylalanin	Serum von neugeborenen Rindern
Prolin	Fibroblastenwachstumsfaktor
Serin	Transferrin
Threonin	Insulin
Tryptophan	Progesteron
Tyrosin	Testosteron
Valin	Beta-Estradiol
Puffer	Hydrokortison
Natriumbicarbonat	Nukleinsäuren
Vitamine und Spurenlemente	Cytidin
Biotin	Desoxyadenosin
Riboflavin	Desoxycytidin
Ascorbinsäure	Desoxyguanosin
Folsäure	Guanosin
Nikotinsäure	Thymidin
Pantothensaure	Uridin
Pyridoxal	Adenosin
Pyridoxin	Hypoxanthin
Thiamin	Antioxidanzen
Vitamin B12	Thiocianäure
Energiesubstrate	Andere
Glukose	
Inositol	
Pyruvat	Ethyalkohol
pH-Indikator	Putrescin
Phenolrot	

QUALITÄTSSICHERUNG

STERILITÄT

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

VORBEREITUNG

1. Das CHANG Medium *In Situ* schnell auftauen, dazu das Fläschchen in einem 37 °C warmen Wasserbad schwenken.
2. Bei Bedarf können Antibiotika hinzugefügt werden.

ALIQUOTIEREN DES CHANG MEDIUM *In Situ*

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

GE BRAUCHSANWEISUNG

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

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

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

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

Verwendung von CHANG Medium *In Situ* 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 *In Situ* 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.

Hinweis: Häufig bilden sich Calciumoxalatkristalle im CHANG Medium *In Situ*. Es gibt keine Hinweise, dass die Anwesenheit dieser Kristalle die Produktleistung beeinträchtigt.

LAGERUNG UND STABILITÄT

Das CHANG Medium *In Situ* tiegeföhlt bei -10 °C lagern. Nicht verwendetes CHANG Medium *In Situ* kann erneut eingefroren oder bei 2 °C bis 8 °C gelagert werden.

Keinem Fluoreszenzlicht aussetzen.

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

VORSICHTSMASSNAHMEN UND WARNHINWEISE

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

Keine Flaschen verwenden, deren Sterilverpackung beschädigt wurde.

CHANG Medium *In Situ* nicht nach dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum verwenden.

ITALIANO

INDICAZIONI PER L'USO

CHANG Medium *In Situ* può essere utilizzato nelle seguenti applicazioni:

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

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

DESCRIZIONE DEL DISPOSITIVO

CHANG Medium *In Situ* è stato sviluppato per colture primarie di cellule di liquido amniotico umano per la determinazione del cariotipo e altri test genetici prenatali. Questa formula è stata ottimizzata per metodologie in situ.

COMPONENTI

Aminoacidi	Indicatore di pH
Alanina	Rosso fenolo
Arginina	Sali e ioni
Asparagina	Cloruro di sodio
Acido aspartico	Cloruro di potassio
Cisteina	Fosfato di sodio
Cistina	Fosfato di potassio
Acido glutammico	Cloruro di calcio
Glutamina	Solfato di magnesio
Glicina	Cloruro di collina
Istidina	Cloruro di magnesio
Isoleucina	Selenito di sodio
Leucina	Solfato di rame
Metionina	Solfato di zinc
Fenilalanina	Proteine, ormoni e fattori di crescita
Prolina	Siero bovino fetale
Serina	Siero bovino neonatale
Treonina	Fattore di crescita dei fibroblasti
Triptofano	Transferrina
Tirosina	Insulina
Valina	Progesterone
Tampone	Testosterone
Bicarbonato di sodio	B-estradiolo
Vitamine ed elementi in tracce	Idrocortisone
Biotina	Acidi nucleici
Riboflavina	Citidina
Acido ascorbico	Deossicidina
Acido folico	Deossiguanosina
Acido nicotinico	Timidina
Acido pantotenico	Uridina
Piridossale	Adenosina
Piridossina	Ipoxantina
Tiamina	Acido tioclico
Vitamina B12	Altri
Substrati energetici	Alcol etilico
Glucosio	Putrescina
Inositol	
Piruvato	

GARANZIA DI QUALITÀ

STERILITÀ

Il siero usato per la produzione di CHANG Medium *In Situ* 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 *In Situ* è stato sterilizzato per filtrazione mediante filtro da 0,1 micron. Campioni di CHANG Medium *In Situ* sono stati testati per escludere eventuale contaminazione batteriologica seguendo il protocollo delle prove di sterilità descritto nel corrente test di sterilità USP <71>.

PREPARAZIONE PER L'USO

1. Scongelare rapidamente CHANG Medium *In Situ* congelato agitando il flacone in un bagno d'acqua a 37 °C.
2. È possibile aggiungere antibiotici, se lo si ritiene necessario.

ITALIANO

SUDDIVISIONE DI CHANG MEDIUM *In Situ*

1. Scongelare CHANG Medium *In Situ* seguendo le istruzioni.
2. Distribuire in condizioni aseptiche in aliquote di dimensioni appropriate e ricongelare.
3. Scongelare le aliquote in bagno d'acqua a 37 °C quando si è pronti a usarle.

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 per circa 30 minuti.

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

Uso di CHANG Medium *In Situ* per colture primarie: metodologie in situ

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

Uso di CHANG Medium *In Situ* per colture secondarie di liquido amniotico:

Per eseguire colture cellulari secondarie, trattare con tripsina (o pronase ecc.) come nel caso di cellule in coltura in terreno convenzionale. In ogni caso, il trattamento con proteasi deve essere monitorato accuratamente. Le cellule di liquido amniotico coltivate in CHANG Medium *In Situ* 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 *In Situ* congelato a -10 °C. Il prodotto non utilizzato può essere ricongelato o conservato a 2-8 °C.

Proteggere da luce fluorescente.

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

PRECAUZIONI E AVVERTENZE

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

Non usare flaconi la cui confezione sterile sia stata compromessa.

Non utilizzare CHANG Medium *In Situ* dopo la data di scadenza indicata sull'etichetta.

ESPAÑOL

INDICACIÓN DE USO

El CHANG Medium *In Situ* se puede usar para estas aplicaciones:

1. cultivo primario de células de líquido amniótico,
2. expansión de células de líquido amniótico subcultivadas,
3. tejido amniótico sólido (muestreo de vellosidades coriáceas),

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

DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO

El CHANG Medium *In Situ* se desarrolló para el cultivo primario de células de líquido amniótico humano que se utilizan en el cariotípido y otras pruebas genéticas prenatales. Esta fórmula se ha optimizado para los métodos *in situ*.

COMPONENTES

Aminoácidos	Sales e iones
Alanina	Cloruro sódico
Arginina	Cloruro potásico
Asparagina	Fosfato sódico
Ácido aspártico	Fosfato potásico
Cisteína	Cloruro calcio
Cistina	Sulfato magnésico
Ácido glutámico	Cloruro de colina
Glutamina	Cloruro magnésico
Glicina	Selenito sódico
Histidina	Sulfato cuproso
Isoleucina	Sulfato ferroso
Leucina	Sulfato de zinc
Lisina	Proteínas, hormonas y factores de crecimiento
Metionina	Suero bovino fetal
Fenilalanina	Suero bovino neonatal
Prolina	Factor de crecimiento fibroblástico (FGF)
Serina	Transferrina
Treonina	Insulina
Triptófano	Progesterona
Tirosina	Testosterona
Valina	Bicarbonato sódico
Sistemas tampon	B-estradiol
Bicarbonato sódico	Hidrocortisona
Vitaminas y oligoelementos	Ácidos nucleicos
Biotina	Citidina
Riboflavina	Desoxadenosina
Ácido ascórbico	Desoxicitidina
Ácido fólico	Desoxiquanosina
Ácido nicotínico	Guanosina
Ácido pantoténico	Timidina
Piridoxal	Uridina
Piridoxina	Adenosina
Tiamina	Hipoxantina
Vitamina B12	Antioxidante
Sustitutos energéticos	Ácido fólico
Glucosa	Otros
Inositol	Alcohol etílico
Príruvato	Putrescina
Indicador del pH	
Rojo de fenol	

GARANTÍA DE CALIDAD

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

PREPARACIÓN PARA EL USO

1. Descongelar rápidamente el CHANG Medium *In Situ* mediante balanceo del frasco en un baño de agua a 37 °C.
2. Se pueden añadir antibióticos si se desea.

DIVIDIR EN ALÍCUOTAS EL CHANG MEDIUM *IN SITU*

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

INSTRUCCIONES DE USO

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

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

Uso del CHANG Medium *In Situ* para cultivos primarios: métodos *in situ*

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

Uso del CHANG Medium *In Situ* 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 *In Situ* 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.

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

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Conservar el CHANG Medium *In Situ* congelado a -10 °C. El CHANG Medium *In Situ* no utilizado se puede volver a congelar o almacenarse entre 2 °C y 8 °C.

Proteger de la luz fluorescente.

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

PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

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

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

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

FRANÇAIS

INDICATION D'UTILISATION

CHANG Medium *In Situ* peut être utilisé pour les applications suivantes :

1. La cultura primaire des cellules du liquide amniotique ;
2. Le repiquage des cellules du liquide amniotique ;
3. La culture des tissus des prélevements de villosités choriales de la membrane amniotique.

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

DESCRIPTION DU DISPOSITIF

CHANG Medium *In Situ* a été conçu pour la culture primaire des cellules de liquide amniotique humain lors du caryotypage et des autres tests de diagnostic génétique prénatal. Cette formule a été optimisée pour les méthodes *in situ*.

COMPOSANTS

Acides aminés	Sels et ions
Alanine	Chlorure de sodium
Arginine	Chlorure de potassium
Asparagine	Phosphate de sodium
Ácido aspártico	Phosphate de potassium
Cisteína	Cystéine
Cistina	Sulfate de calcium
Ácido glutámico	Acide glutamique
Glutamina	Chlorure de magnésium
Glicina	Glutamine
Histidina	Glycine
Isoleucina	Histidine
Leucina	Isoleucine
Lisina	Leucine
Metionina	Lysine
Fenilalanina	Méthionine
Prolina	Phénylalanine
Serina	Proline
Treonina	Sérine
Triptófano	Thréonine
Tirosina	Tryptophane
Valina	Tyrosine
Sistemas tampon	Valline
Bicarbonato sódico	Tampon
Vitaminas y oligoelementos	Bicarbonate de sodium
Biotina	Vitamines et oligo-éléments
Riboflavina	Biotine
Ácido ascórbico	Riboflavine
Ácido fólico	Acide ascorbique
Ácido nicotínico	Acide folique
Ácido pantoténico	Acide nicotinique
Piridoxal	Acide pantothénique
Piridoxina	Pyridoxal
Tiamina	Pyridoxidine
Vitamina B12	Thiamine
Sustitutos energéticos	Vitamine B12
Glucosa	Substrats énergétiques
Inositol	Glucose
Príruvato	Inositol
Indicador del pH	Pyruvate
Rojo de fenol	Indicateur de pH

ASSURANCE QUALITÉ

STÉRILITÉ

Le sérum utilisé dans la fabrication de CHANG Medium *In Situ* 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 mycoplasma. CHANG Medium *In Situ* est stérilisé par filtration avec un filtre de 0,1 µm. Des échantillons de CHANG Medium *In Situ* sont testés pour une éventuelle contamination bactérienne selon le protocole de test de stérilité décrit dans le test de stérilité courant de la pharmacopée américaine (USP) <71>.

PRÉPARATION

1. Décongeler rapidement CHANG Medium *In Situ* en agitant el frasco en un bain-marie a 37 °C.
2. Des antibioticos peuvent également être ajoutés, le cas échéant.

PRÉPARATION D'ALIQUOTES DE CHANG MEDIUM *IN SITU*

1. Décongeler CHANG Medium *In Situ* conformément aux instructions.

2. Répartir stérilement en plusieurs aliquotes de taille appropriée et recongeler.
3. Décongeler les aliquotes dans un bain-marie a 37 °C lorsqu'elles sont prêtes à être utilisées.

MODE D'EMPLOI

Le pH del medio utilizado para alimentar los cultivos doit se situer entre 6,8 et 7,2 (c.-à-d. le milieu doit être de couleur légèremente jaunâtre-salmon). Le pH se peut facilement être ajusté en placant le tube del milieu dans une étuve à CO₂ (5 à 8 %), le bouchon légèrement dévissé pendant environ 30 minutes.

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

Utilisation de CHANG Medium *In Situ* pour les cultures primarias : métodos *in situ*

1. Centrifugare el líquido amniótico a baixa velocidade para concentrar as células.
2. Remetter le culot cellular 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 *In Situ* à la suspension concentrée des cellules pour obtenir un volume final nécessaire pour 4 lameles (0,5 ml par lamele) ou 2 ml par petit flacon de culture.
3. Incubar les cultures sans agitation à 37 °C en atmosphère de CO₂ (5 à 8 %).
4. Inonder les cultures le deuxième jour en ajoutant 2 ml de CHANG Medium *In Situ*.
5. Au bout de 4 à 5 jours, vérifier la croissance des cultures. Dès qu'une croissance est observée, alimenter les cultures en retirant le surnageant et en le remplaçant par 2 ml de CHANG Medium *In Situ* frais. Il est recommandé d'alimenter les cultures tous les 2 jours par la suite.
6. Vérifier la croissance des cultures à partir du cinquième jour et procéder à la collecte lorsque les cultures ont des colonies de taille suffisante.
7. Les meilleurs résultats sont obtenus lorsque les cultures sont alimentées avec CHANG Medium *In Situ* la veille de la collecte.

Utilisation de CHANG Medium *In Situ* pour el repique de las células del líquido amniotico :

Pour repiquer las células, tratar las culturas avec de la trypsin (ou de la pronase, etc.) comme vous le faites normalmente lorsque las células son cultivées dans un milieu convencional. Le traitement avec des protéases doit coependant être surveillé avec prudence. Las células del líquido amniotico cultivadas dans du CHANG Medium *In Situ* ont tendance a être plus sensibles au traitement protéasique que celles cultivées dans un milieu tradicional. Il peut être nécessaire de modifier le protocole en conséquence.

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

CONSERVATION ET STABILITÉ

Conserver CHANG Medium *In Situ* congelado a -10 °C. Les portions non utilisées de CHANG Medium *In Situ* peuvent être recongelées ou conservées entre 2 et 8 °C.

Protéger de la lumière fluorescente.

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

PRÉCAUTIONS ET MISES EN GARDE

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

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

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

PORTEGUES

INDICAÇÃO DE UTILIZAÇÃO

O CHANG Medium *In Situ* 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. tecido sólido do ámnio obtido por colheita de amostras das vilosidades coriônicas.

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

Descrição do dispositivo

O CHANG Medium *In Situ* foi desenvolvido para a cultura primária de células do líquido amniótico humano para utilização na cariotipagem e outros testes genéticos pré-natais. Esta fórmula foi otimizada para metodologias *in situ*.

COMPONENTES

Aminoácidos	Sais e iões
Alanina	Cloreto de sódio
Arginina	Cloreto de potássio
Asparagina	Fosfato de sódio
Ácido aspártico	Fosfato de potássio
Cisteína	Cloreto de cálcio
Cistina	Sulfato de magnésio
Ácido glutâmico	Cloreto de colina
Glutamina	Cloreto de magnésio
Glicina	Selenito de sódio
Histidina	Sulfato cuproso
Isoleucina	Sulfato ferroso
Leucina	Sulfato de zinco
Lisina	Proteínas, hormonas e fatores de crescimento
Metionina	Soro bovino fetal
Fenilalanina	Soro bovino neonatal
Prolina	Fator de crescimento dos fibroblastos (FGF)
Serina	Trotrofano
Treonina	Transterrina
Tirosina	Insulina
Valina	Progesterona
Tampão	Testosterona
Bicarbonato de sódio	B-estradiol
Vitaminas e oligoelementos	Hidrocortisona
Biotina	Ácidos nucleicos
Riboflavina	Citidina
Ácido ascórbico	Desoxadenosina
Ácido fólico	Desoxicordidina
Ácido nicotínico	Desoxiguanosina
Ácido pantoténico	Guanosina
Piridoxal	Timidina
Piridoxina	Uridina
Tiamina	Adenosina
Vitamina B12	Hipoxantina
Substratos energéticos	Antioxidante
Glucose	Acido iólico
Inositol	Outros
Piruvato	Álcool etílico
Indicador de pH	Putrescina
Vermelho de fenol	

GARANTIA DE QUALIDADE

ESTERILIDADE

O sono utilizado na produção do CHANG Medium *In Situ* 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. O CHANG Medium *In Situ* foi esterilizado por filtração através de um filtro de 0,1 µm. Foram testadas amostras de CHANG Medium *In Situ* em relação a possível contaminação bacteriológica, seguindo o protocolo de testes da esterilidade do capítulo 71 da versão atual da USP (Farmacopeia dos EUA).

PREPARAÇÃO PARA UTILIZAÇÃO

1. Descongele o CHANG Medium *In Situ* rapidamente, girando o frasco em banho-maria a 37 °C.
2. Se pretender, pode adicionar antibióticos.

DIVIDIR EM ALÍQUOTAS O CHANG MEDIUM *In Situ*

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

INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

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

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

Utilização do CHANG Medium *In Situ* para culturas primárias: metodologias *in situ*

1. Centrifuge 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 *In Situ* suficiente à suspensão de células concentrada para permitir o volume final em placa equivalente a 0,5 ml por lamela (total de 4 lamelas) ou a 2 ml por frasco de cultura.
3. Incube as culturas sem interferência a 37 °C numa atmosfera de 5%–8% de CO₂.
4. Inunde as culturas no 2.º dia, adicionando 2 ml de CHANG Medium *In Situ*.
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 *In Situ* 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 colônias suficientes.
7. Os melhores resultados obtêm-se quando as culturas são alimentadas com CHANG Medium *In Situ* no dia anterior à colheita.

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

CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE

Conservar o CHANG Medium *In Situ* congelado a -10 °C. Pode voltar a congelar o CHANG Medium *In Situ* não usado ou conservá-lo entre 2 °C e 8 °C.

Proteger da luz fluorescente.

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

PRECAUÇÕES E ADVERTÊNCIAS

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

Não utilize um frasco cuja embalagem estéril tenha sido comprometida.

Não utilize o CHANG Medium *In Situ* para além do prazo de validade indicado no rótulo.

ΕΛΛΗΝΙΚΑ

ΕΝΔΕΙΞΗ ΧΡΗΣΗΣ

To CHANG Medium *In Situ* μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τις παρακάτω εφαρμογές:

1. την πρωτογενή καλλιέργεια κυττάρων αμνιακού υγρού
2. την ανάπτυξη κυττάρων υποκαλιεργιών αμνιακού υγρού
3. τη δειγματοληψία συμπαγούς αμνιακού ιστού από χοριακές λάχνες.

Αυτό το μέσο έχει σχεδιαστεί για χρήση σε επωαστήρες CO_2 (καλλιέργειες εξισορροπημένες με ατμόσφαιρα 5%-8% CO_2).

ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΗΣ ΣΥΣΚΕΥΗΣ

To CHANG Medium *In Situ* αναπτυγμένη για την πρωτογενή καλλιέργεια ανθρώπινων κυττάρων αμνιακού υγρού για χρήση σε καρυοτυποίση και άλλες προγενητικές γενετικές εξέτασης. Αυτή η σύνθεση έχει βελτιστοποιηθεί για *In Situ* μεθοδολογίες.

ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ

Αμνούζα	Άλατα και ίόντα
Αλανίνη	Χλωριούχο νάτριο
Αργινίνη	Χλωριούχο κάλιο
Ασπαρανίνη	Φωσφορικό νάτριο
Ασπαρτικό οξύ	Φωσφορικό κάλιο
Κυστεΐνη	Χλωριούχο ασβέστιο
Κυστίνη	Θειικό μαγνήσιο
Γλουταμικό οξύ	Χλωριούχος χολίνη
Γλουταμίνη	Χλωριούχο μαγνήσιο
Γλυκίνη	Χλωριούχο νάτριο
Ιστιδίνη	Θειικός χαλκός
Ισολευκίνη	Θειικός αιθρός
Λευκίνη	Θειικός ψευδάργυρος
Λυσινή	Πιρωτίνες, ορμόνες και αυδηπτικοί παράργαντες
Μεθειονίνη	Ορός από έμβυτο βοσειδίων
Φαινουλανίνη	Ορός από νεούνιο βοσειδίων
Πορολίνη	Αυτηρικός παρόγνατος
Σερίνη	Ινοβλαστίνη (FGF)
Θρεονίνη	Τρανσφερίνη
Τρυποφόφανη	Ινσουλίνη
Τυροσινή	Προγεστερόνη
Βαλίνη	Τεστοστερόνη
Ρυθμωτικό διάλυμα	Β-οισοπραδίλη
Διπανθρακικό νάτριο	Υδροκορτιζόνη
Βιταμίνες και ιγνοστοχεία	Νουκλεϊκά οξέα
Βιοτίνη	Κυττοδίνη
Ριβόφαθινη	Δεοξιδινεσοΐνη
Ασκοβικίνη οξύ	Δεοξικούτηνη
Φυλικό οξύ	Δεοξιγουανοσοΐνη
Νικοτινικό οξύ	Γουανοσίνη
Παντοθενικό οξύ	Θυμιδίνη
Πυριδοξελήνη	Ουριόλινη
Πυριδοξίνη	Αδενοστιν
Θειομίνη	Υπόριζανθίνη
Βιταμίνη B12	Αντιοξειδωματικό
Ενεργειακά υποστρώματα	Θειοκτικό οξύ
Γλυκόζη	Άλλα
Ινσοτόπη	Αιθυλική αλκοόλη
Πυροσταφιλικό	Τιοστρεσίνη
Ερυθρός pH	
Ερυθρός της φαινόλης	

ΔΙΑΣΦΑΛΙΣΗ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ

ΣΤΕΙΡΟΤΗΤΑ

Ο ορός που χρησιμοποιείται στην παραγωγή του CHANG Medium *In Situ* έχει ελεγχθεί για ιογενή μόλυνση σύμφωνα με το CFR Title 9 Part 113.53. Εγείς επίσης εξεταστεί για μόλυνση από μυκόπλασμα. Το CHANG Medium *In Situ* έχει αποστειρωθεί μέσω διμήτρησης με φίλτρο 0,1 μικρομέτρων. Δείγματα του CHANG Medium *In Situ* ελέγχονται για πιθανή βακτηριολογική μόλυνση, ακολουθώντας το πρωτόκολλο δικυασίας στειρότητας που περιγράφεται στην τρέχουσα δοκιμασία στειρότητας κατά USP <71>.

ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΧΡΗΣΗΣ

1. Απονύμετε το CHANG Medium *In Situ* γρήγορα, περιδινίζοντας τη φιάλη σε υδατόλουτο θερμοκρασίας 37 °C.

2. Μπορείτε να προσθέστε αντιβιοτικά αν το επιθυμείτε.

ΔΙΑΜΟΙΡΑΣΜΟΣ ΣΕ ΚΛΑΣΜΑΤΑ ΤΟΥ CHANG MEDIUM *IN SITU*

1. Απονύμετε το CHANG Medium *In Situ* σύμφωνα με τις οδηγίες.
2. Διανείμετε, υπό άσπρης συνθήκης, σε πρακτικού μεγέθους κλάματα και κατανύστε τα ξανά.
3. Απονύμετε τα κλάματα σε υδατόλουτο θερμοκρασίας 37 °C όταν είστε έτοιμοι να τα χρησιμοποιήσετε.

ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ

Το pH του μέσου που χρησιμοποιείται για τη θέρψη των καλλιέργειών πρέπει να είναι 6,8-7,2 (δηλαδή το μέσο πρέπει να έχει ελαφρύ κίτρινο χρώμα σολομού). Το pH μπορεί να ρυθμίστε εύκολα, τοποθετώντας το μέσο σε επωαστήρα 5%-8% CO_2 , με το πάγμα ελαφρώς χαλαρό για περίπου 30 λεπτά.

Το τελικό pH πρέπει να είναι 6,8-7,2.

Χρήση του CHANG Medium *In Situ* για πρωτογενείς καλλιέργειες: *in situ* μεθοδολογίες

1. Φύγοντεςτο το αμνιακό υγρό σε χαμηλή ταχύτητα, για συμπλήρωση των κυττάρων.
2. Επαναλάβατε την εναίωρηση του κυτταρικού συστασιατώματος σε μικρό όγκο αμνιακού υγρού της ίδιας της ασθενούς. Για παράδειγμα, αναρράφηστε το υπερκείμενο υγρό από τα 10 mL του φυγοκεντρισμένου αμνιακού υγρού, έως τα 0,5 mL πάνω από το κυτταρικό συστασιατόματα και επαναλάβατε την εναίωρηση. Προσθέτετε επαρκή ποσότητα CHANG Medium *In Situ* στο συμπυκνωμένο κυτταρικό εναίωρημα για να παρασχεθεί τελικός όγκος επιστρώσης 0,5 mL ανά καλυπτρίδα (συνολικά 4 καλυπτρίδες) ή 2 mL ανά μπουκαλάκι.
3. Επωάστε τις καλλιέργειες αδιστάρκτες σε ατμόσφαιρα 5%-8% CO_2 στους 37 °C.
4. Γεμίστε τις καλλιέργειες τη 2η ημέρα, προσθέτοντας 2 mL CHANG Medium *In Situ*.
5. Μετά από 4 έως 5 ημέρες, οι καλλιέργειες θα πρέπει να ελέγχονται για την ανάπτυξη τους. Η παροχή θρεπτικού υλικού στις καλλιέργειες θα πρέπει να γίνεται αφού παρατηρηθεί ανάπτυξη. Παρέχετε θρεπτικό υλικό στις καλλιέργειες αγαριώντας ολόκληρη την ποσότητα του υπερκείμενου υγρού της καλλιέργειας και αντικαθιστώντας το με 2 mL φρέσκου CHANG Medium *In Situ*. Συνιστάται η παροχή θρεπτικού υλικού στις καλλιέργειες κάθε 2 ημέρες από αυτό το σημείο και έπειτα.
6. Ελέγχητη την ανάπτυξη των καλλιέργειών την 5η ημέρα, ή μετά από αυτήν, και συλλέξτε όταν οι καλλιέργειες τρέφονται με CHANG Medium *In Situ* την ημέρα πριν από τη συλλογή.
7. Τα καλύτερα αποτελέσματα λαμβάνονται όταν οι καλλιέργειες τρέφονται με CHANG Medium *In Situ* την ημέρα πριν από τη συλλογή.

Χρήση του CHANG Medium *In Situ* για την ανάπτυξη κυττάρων υποκαλιεργιών αμνιακού υγρού:

Για την υποκαλιεργεία των κυττάρων, επεξεργαστείτε τις καλλιέργειες με θρυψίνη (ή προνάστη κ.λπ.) όπως θα κάνετε εάν τα κύτταρα καλλιεργούνταν σε συμβατικό μέσο. Οπότε, η επεξεργασία με πρωτεάση θα τρέπεται να παρακολουθείται προσεκτικά. Τα κύτταρα αμνιακού υγρού που καλλιεργούνται στο CHANG Medium *In Situ* τείνουν να είναι περισσότερο ευαίσθητα στην επεξεργασία με πρωτεάση από τα κύτταρα του αμνιακού υγρού που καλλιεργούνται σε συμβατικά μέσα. Μπορεί να κριεστείτε να τροποποιήσετε το πρωτόκολλό σας για να λάβετε υπόψη αυτή την πληροφορία.

Σημείωση: Στο CHANG Medium *In Situ* σηματίζονται συγχρόνως οι διάφοροι ασβεστοί. Η παρουσία αυτών των κρυστάλλων δεν έχει αποδειχθεί ότι προκαλεί οποιαδήποτε αρνητική επίδραση στην απόδοση του προϊόντος.

ΦΥΛΑΞΗ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ

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

Προστατεύτε το από φθορίζον φως.

Δείτε την επικέτα της φιάλης για τη συγκεκριμένη πμερομηνία λήξης. Το CHANG Medium *In Situ* μπορεί να επανακαταψυχθεί το μέγιστο 2 φορές και να φυλαχθεί στο πουσόμητο στους 2 °C έως 8 °C για 14 ημέρες, χωρίς να επηρεαστεί η λειτουργία του. Δεν συστήνεται η φύλαξη για διάστημα μεγαλύτερο των 14 ημέρων.

ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΕΙΣ

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

Μη χρησιμοποιείτε το CHANG Medium *In Situ* μετά την παρέλευση της ημερομηνίας λήξης που υποδεικνύεται στην επικέτα.

Μη χρησιμοποιείτε το CHANG Medium *In Situ* μετά την εναίωρηση της φιάλης που περιλαμβάνεται στη συσκευή.

ČEŠTINA

INDIKACE PRO POUŽITÍ

CHANG Medium *In Situ* lze použít pro tyto aplikace:

1. primokultivace buňek z plodové vody
2. pěstování pasážových buněk z plodové vody
3. odběr vzorků pevné amniotické tkáně z choriových klík

Toto médium je určeno k použití v CO_2 inkubátoch (kultury ekvilibrovány s atmosférou s 5 % – 8 % CO_2).

POPIΣ PROSTŘEDKU

CHANG Medium *In Situ* bylo vyvinuto k primokultivaci lidských buňek z plodové vody pro účely karyotypizace a jiných antenatálních genetických testů. Složení bylo optimizováno pro metody *in situ*.

SLOŽKY

<u>Aminokyseliny</u>	<u>Soli a ionty</u>
Alanin	Chlорид sodný
Arginin	Chlорид draselný
Asparagin	Fosforečnan sodný
Kyselina asparagová	Fosforečnan draselný
Cystein	Chlорid vápenatý
Cystin	Síran hořečnatý
Kyselina glutamová	Cholinchlorid
Glutamin	Chlорid hořečnatý
Histidin	Síran měděnatý
Isoleucin	Síran železnatý
Leucin	Síran zinečnatý
Lysin	Protein, hormony
Methionin	a růstové faktory
Fenylalanin	Fetální bovinní sérum
Prolin	Novorozenecké bovinní sérum
Serin	Sérum
Threonin	Fibroblastový růstový faktor (FGF)
Tryptofan	Transférin
Tyrosin	Inzulin
Valin	Progesteron
Pufř	Testosteron
Hydrogenučitan sodný	B-estradiol
Vitamininy a stopové pravky	Hydrokortisón
Biotin	Nukleoproteiny
Riboflavin	Cytidin
Kyselina askorbová	Deoxyadenosin
Kyselina lisová	Deoxycytidin
Kyselina nikotinová	Deoxyguanosin
Kyselina pantothénová	Guanosin
Pyridoxal	Thymidin
Pyridoxin	Uridin
Thiamin	Adenosin
Vitamin B12	Hypoxanthin
Energetické substráty	Antioxidant
Glukóza	Inositol
Inositol	Kyselina thioklovatá
Pyravát	Ostatní
Indikátor pH	Ethylyalohol
Indolová červeň	Putrescin

ZAJÍSTEŇÍ KVALITY

STERILITA

Sérum používané k výrobě doplňku CHANG Medium *In Situ* bylo testováno na přítomnost virové kontaminace podle předpisů CFR hlava 9 část 113.53. Byl také proveden screening na kontaminaci mykoplazmaty. CHANG Medium *In Situ* je sterilizován filtrací o jemnosti 0,1 mikronu. Vzorky CHANG Medium *In Situ* jsou testovány na možnou bakteriální kontaminaci podle protokolu testování sterility popsaného v aktuálně používaném testu na kontrolu sterility podle lekopisu USA <11>.

PŘÍPRAVA K POUŽITÍ

1. CHANG Medium *In Situ* rychle rozmrazte kroužením lahvičky ve vodní lázni ή teplote 37 °C.
2. Podle potřeby lze přidat antibiotika.

ROZDĚLENÍ CHANG MEDIUM *IN SITU*

1. Podle pokynů rozmrazte CHANG Medium *In Situ*.
2. Asepticky rozdělte na dily o příhodném objemu a znovu zmražte.
3. Až je budete připraveno použít, rozmrazte dily ve vodní lázni ή teplote 37 °C.

NAVOD K POUŽITÍ

pH média používaného k výživě kultur musí být v rozmezí 6,8–7,2 (tj. médium musí mít mírně nažloutlou lososovou barvu). pH lze snadno upravit vložením média s mírně uvolněným uzavřením do inkubátoru s atmosférou 5 % – 8 % CO_2 přibližně na 30 minut.

Konečné pH musí být 6,8–7,2.

Použití média CHANG Medium *In Situ* k primokultivaci: metody *in situ*

1. Odstředěním plodové vody při nízkých otáčkách koncentrujte buňky.
2. Resuspendujte buněčný pelet v malém objemu vlastní plodové vody pacientky. Například aspirujte supernatant z 10 ml odstředění plodové vody, aby zbylo jen 0,5 ml nad buněčným peletem a resuspendujte. Ke koncentrované buněčné suspenzi přidejte dostatečně množství CHANG Medium *In Situ*, aby výsledně měl 0,5 ml na jedno kryči skličko (celkem 4 kryči sklička) nebo 2 ml na kultivační lahvíčku.
3. Inkubujte kultury nerušeně při teplotě 37 °C a v atmosféře 5 % – 8 % CO_2 .
4. 2. den kultury zapalte přidáním 2 ml CHANG Medium *In Situ*.
5. Po 4 až 5 dnech zkontrolujte růst kultur. Jakmile začnou růst, je třeba dodat živiny. Živiny dodejte tak, že odstraníte veškerou supernatantu kultury a nahradíte ho 2 ml čerstvého CHANG Medium *In Situ*. Poté doporučujeme kulturám doplňovat živiny každé 2 dny.
6. Den po nebo 5 dnech kontrolujte růst kultur a když zjistíte dostatečné kolonie, prověřte sběr.
7. Optimální výsledky se dosahují, pokud jsou kultury vyzívané mediem CHANG Medium *In Situ* den před sběrem.

Použití média CHANG Medium *In Situ* k pěstování pasážových buněk z plodové vody:

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

Poznámka: V médiu CHANG Medium *In Situ* se běžně tvoří krystalky šťavelanu vápenatého. Nebylo prokázáno, že by přítomnost těchto krystalků měla jakékoli negativní účinek na funkci výrobku.

UCHOVÁVÁNÍ A STABILITA

Médium CHANG Medium *In Situ* uchovávejte zmražené při teplotě -10 °C. Nepoužité médium CHANG Medium *In Situ* lze znovu zmražit nebo skladovat při teplotě 2 °C až 8 °C.

Chraňte před fluorescenčním světlem.

Specifické datum expirace naleznete na štítku lahve. CHANG Medium *In Situ* lze opakovatne zmražit maximálně 2x a uchovávat rozmražené při teplotě 2 °C až 8 °C po dobu 14 dní, anž by tím byly dotčeny jeho vlastnosti. Skladování po dobu delší než 14 dní se nedoporučuje.

BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ A VAROVÁNÍ

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

Nepoužívejte žádnou lahvu s poškozeným sterilním balením.

CHANG Medium *In Situ* nepoužívejte po uplynutí data expirace vyznačeném na štítku.

DANSK

INDIKATIONER FOR ANVENDELSE

CHANG Medium *In situ* kan anvendes til følgende applikationer:

- Primær dyrkning af amnionvæskeceller
- Dyrkning af passerede amnionvæskeceller
- Solidt amnionvæv fra chorionvilli-prover.

Dette medium er fremstillet til brug i CO_2 -inkubatorer (kulturer der er tilpasset en atmosfære på 5-8 % CO_2).

BESKRIVELSE AF PRODUKTET

CHANG Medium *In situ* blev udviklet til primær dyrkning af humane amnionvæskeceller til karyotypbestemmelse og anden antenatal genetisk testning. Denne formulering er optimeret til *in situ*-metodologier.

KOMPONENTER

Aminosyrer	Salte og ioner
Alanin	Natriumchlorid
Arginin	Kaliumchlorid
Asparagin	Natriumfosfat
Asparaginsyre	Kaliumfosfat
Cystein	Kaliumchlorid
Cystin	Magnesiumsulfat
Glutaminsyre	Kolinklorid
Glutamin	Magnesiumklorid
Glycin	Natriumselenitet
Histidin	Cuprisulfat
Isoleucin	Jernsulfat
Leucin	Zinksulfat
Lysin	Proteiner, hormoner og vækstfaktorer
Methionin	Folat, bovin serum
Phenylalanin	Serum fra nyfødt kalv
Prolin	Fibroblastvækstfaktor (FGF)
Serin	Transferrin
Threonin	Insulin
Tryptofan	Progesteron
Tyrosin	Testosteron
Valin	B-østradiol
Buffer	Hydrokortison
Natriumbikarbonat	Nukleinsyrer
Vitaminer og sporelementer	Cytidin
Biotin	Deoxyadenosin
Riboflavin	Deoxycytidin
Ascorbinsyre	Deoxyguanosin
Folinsyre	Guanosin
Nikotinsyre	Thymidin
Pantothensyre	Uridin
Pyridoksal	Adenosin
Pyridoxin	Hypoxanthin
Thiamin	Antioxidant
B12-vitamin	Thiotsyre
Energisubstrater	Andre
Glukose	Ætialkohol
Inositol	Putrescin
Pyruvat	
pH-indikator	
Rød fenol	

KVALITETSSIKRING

STERILITET

Serum, der er anvendt i produktionen af CHANG Medium *In situ* er blevet testet for viruskontamination ifølge CFR Title 9 Part 113.53. Det er også screenet for mykoplasmakontaminerings. CHANG Medium *In situ* er steriliseret vha. filterning gennem et filter på 0,1 mikron. Prøver af CHANG Medium *In situ* testes for potentiel bakteriologisk kontaminerings ifølge protokollen for sterilitetstestning som beskrevet i den aktuelle USP-sterilitetstest <71>.

KLARGØRING

- Opto hulrigt CHANG Medium *In situ* ved at hvirve flasken i et 37 °C vandbad.
- Der kan eventuelt tilslættes antibiotika.

AFMÅLING AF CHANG MEDIUM *In situ*

- Opto CHANG Medium *In situ* ifølge vejledningen.
- Fordel mediet aseptisk i mængder af passende størrelse, og nedfrys dem igen.
- Opto de opdelte mængder i et 37 °C vandbad, når de skal bruges.

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_2 med fåget løsnet let i ca. 30 minutter.

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

Anvendelse af CHANG Medium *In situ* til primære kulturer: metodologi *in situ*

- Centrifuger amnionvæsen ved lav hastighed for at koncentrere cellerne.
- Resuspend cellepelleten i en lille volumen af patientens egen amnionvæske. Aspirer f.eks. supernatanten fra 10 ml centrifugeret amnionvæske til 0,5 ml over cellepelleten, og resuspend. Tilsæt nok CHANG Medium *In situ* til den koncentrerede cellesuspension for at få en endelig udsætningsvolumen på 0,5 ml pr. dækglas (i alt 4 dækglas) eller 2 ml pr. ampuł.
- Inkuber kulturerne uforstyrret ved 37 °C i en atmosfære med 5-8 % CO_2 .
- Skyl kulturerne på dag 2 ved at tilslætte 2 ml CHANG Medium *In situ*.
- Efter 4-5 dage skal kulturernes 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 *In situ*. Det anbefales, at kulturerne næres hver anden dag herefter.
- Kontroller kulturernes vækst på/eller efter dag 5, og host, når der observeres nok kolonier.
- De bedste resultater opnås, hvis kulturerne forsynes med CHANG Medium *In situ* dagen inden høsten.

Anvendelse af CHANG Medium *In situ* til dyrkning af passerede amnionvæskeceller:

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

Bemærk: Der dannes ofte kalciomoxalatkristaller i CHANG Medium *In situ*. Tilstedevarelsen af disse krystaller lader ikke til at forårsage nogen skadelig effekt på produklets ydeevne.

OPBEVARING OG STABILITET

Opbevar CHANG Medium *In situ* frossent ved -10 °C. Ubrugt CHANG Medium *In situ* kan nedfrysdes igen eller opbevares ved 2-8 °C.

Beskyltes mod fluorescerende lys.

Se udlobsdatoen på flaskeetiketten. CHANG Medium *In situ* kan nedfrysdes højst 2 gange efter opfrøring og opbevares optaget ved 2-8 °C i 14 dage, uden at det påvirker dets virkning. Opbevaring længere end 14 dage frarådes.

FORHOLDSREGLER OG ADVARSLER

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

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

Anvend ikke CHANG Medium *In situ* efter den udlobsdato, der er angivet på etiketten.

SUOMI

KÄYTTÖAIHE

CHANG Medium *In Situ* -elatusainetta voidaan käyttää seuraavilta tarkoituksilta:

- lapsivesisolujen primaariviljely
- siirrostettujen lapsivesisolujen kasvattaminen
- kiinteä amnionkalvukudos istukkabiopista.

Tämä elatusaine on suunniteltu käytettäväksi CO_2 -lämpökaapissa (vijelmat, jotka on tasapainotettu 5-8-prosenttiseen CO_2 -ilmakehään).

VÄLINEEN KUVAUS

CHANG Medium *In Situ* kehitettiin ihmisen lapsivesisolujen primaariviljelyyn karyotyypin määrittämistä ja muita syntymää edeltäviä geneettisia testeja varten. Koostumus on optimoitu *in situ*-menetelmä varten.

AINESOSAT

Aminohapot	Suolet ja ionit
alanini	natriumkloridi
arginiini	kaliumkloridi
asparagiini	natriumfosfaatti
asparaginihappo	kaliumfosfaatti
kysteini	kalsiumkloridi
kystiini	magnesiumsulfuaatti
glutamiinihappo	kolinkloridi
glutamini	magnesiumkloridi
glysiini	natriumseleeni
histidiini	kuparisulfuaatti
isoleusini	ferrosulfuaatti
leusini	sinksulfuaatti
lysini	Proteininit, hormonit ja kasvutekijät
metioniini	naudan sikiön seerumi
fenylialaniini	vastasyntyneen naudan seerumi
prolini	fibroblastikasvutekija (FGF)
serini	transferrini
treoniini	insulinili
tryptofaani	progesteroni
tyrosini	testosteroni
valiini	beetaestradioli
Puskuri	hydrokortisoni
natriumbikarbonaatti	Nukleinhapot
Vitamiiniit ja hivenaineet	sityldiini
biotini	deoksiazenosiini
riboflaviini	deoksitydiini
askorbinihappo	deoksiguanoosiini
foolhappo	guanoosiini
pantoteenihappo	tymidiini
pyridoksaali	uridiini
pyridoksimili	adenosiini
flamiini	hypokantanti
B12-vitaminii	Antiksiidanti
Energiabstraktti	tiokliinihappo
glukoosi	Muut
inositol	etanolili
pyruvaatti	putreskini
pH-indikaatori	
fenolipuna	

LAADUNVARMENNUS

STERILIYS

CHANG Medium *In Situ* -tuotteen valmistuksessa käytetään seerumiin testattu viruskontaminaation varalta CFR-säännöksen 09 pykalan 113.53 mukaisesti. Se on seutuota, myös mykoplasmakontaminaation varalta. CHANG Medium *In Situ* on sterilioidu suodattamalla 0,1 mikronin suodattimien läpi. CHANG Medium *In Situ* -tuotteen näytteet testataan mahdollisen bakteriekontaminaation varalta noudataan en vahimmaiseksi määritellyin protokolla. Kasvatusmenetelmä on ehkä muuttuvaa tuotteen toimintakyky millään tavoin.

KÄYTÖN VALMISTELU

- Sulata CHANG Medium *In Situ* -elatusaine nopeasti, 37 °C:n vesihautaesse pulloa pyöriltäen.
- Haluttaessa voidaan lisätä antibiooteja.

CHANG MEDIUM *In Situ* -ELATUSAINEEN JAKAMINEN ERIN

- Sulata CHANG Medium *In Situ* ohjeiden mukaisesti.
- Jaa aseptisesti menetelystä käytetään kokoisiin erilin ja pakasta uudelleen.
- Kun elatusaineita tarvitaan käytöön, sulata erät 37 °C:n vesihautaessa.

KÄYTÖÖHOJEET

Viljelmien ravitsemiseen käytettävä liuoksen pH:n on oltava 6,8-7,2 (ts. elatusaineen värin on oltava hieman ketterävä tai lohenpunainen). pH:ta voidaan säätää helposti asettamalla elatusaine 5-8 %n CO_2 -lämpökaapin korkki hieman loysällä noin 30 minuutin ajaksi.

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

CHANG Medium *In Situ* -elatusaineen käyttö primaariviljelijöille: *in situ*-menetelmät

- Konsentroi solut sentrifugimalla lapsivettä pienellä nopeudella.
- Suspendoi solusakka pieneen määrään potilaan omaa lapsivetta. Jos esimerkiksi 10 ml:ta lapsivessäntye sentrifugoidaan, aspiroi supernatantia pois niin, että solusakan yläpuolelle jää 0,5 ml, ja suspendoi näyte uudelleen. Lisää riihittävästi CHANG Medium *In Situ*-liuosta konsentroituu solususpensioni, niin että lopullinen määrästävissä on 0,5 ml / peitinnä (yleensä 4 peitintässä) tai 2 ml / pieni viljelypullo.
- Inkuboi viljelmiä ilman häiriötä 37 °C:ssa 5-8-prosenttisessa CO_2 -ilmakehäässä.
- Lisää viljelmiä 2 ml CHANG Medium *In Situ*-liuosta päävänä 2.
- Viljelmiin kasvu on tarkistettava 4-5 päivän kuluttua. Viljelmiä on ravittava, kun kasvua on havaittu. Ravitse viljelmiä poistamalla koko viljelymasaperäntä ja korvaamalla se 2 ml:lla luoretta CHANG Medium *In Situ*-liuosta. On suositeltavaa, että viljelmiä ravitaan tämän jälkeen 2 päivän valein.
- Tarkista viljelmiin kasvu päävän 5 tai sen jälkeen. Kerää solut, kun havaitaan riihittävästi pesäkkelta.
- Parhaat tulokset saadaan, kun viljelmiä ravitaan CHANG Medium *In Situ*-liuoksella keräämistä edeltävänä päävänä.

CHANG Medium *In Situ*-liuoksen käyttäminen siirrostettujen lapsivesisolujen kasvattamiseen.

Siirrosta solut käsittelymällä viljelmat trypsiinillä (tai pronaasiilla jne.) kuten normaalistaan, kun soluja kasvatetaan perinteisessä elatusaineessa. Proteasakiat sitteilyä on kuitenkin valvottava huolella. CHANG Medium *In Situ*-liuoksessa kasvatetut lapsivesisolut ovat herkempiä proteasakiatiliteille kuin perinteisessä elatusaineessa kasvatetut lapsivesisolut. Kasvatusmenetelmää on ehkä muuttettava tämän huomioon ottamiseksi.

Huomautus: CHANG Medium *In Situ*-liuoksen muodostuu usein kalsiumklosalaattikiteitä. Näiden kiteiden esilyttäminen ei ole soveltuu heikentävän tuotteen toimintakyky millään tavoin.

Suojaa loistevalaisimen valolta.

Katsota täsmällinen viimeinen käytönpäivä pulloelitelistä. CHANG Medium *In Situ* voidaan pakastaa uudelleen enintään 2 kertaa, ja sitä voidaan säilyttää pulloella 2-8 °C:ssa. Yli 14 päivän ajan sen toimintaan vaikuttavat.

VAROTOIMET JA VAROITUKSET

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

Älä käytä mitään pulloa, jos sen sterili pakaus ei ole ehjä.

Älä käytä CHANG Medium *In Situ*-liuosta etiketissä osoltuviin viimeisen käytönpäivän jälkeen.

LATVIKI**LIETOŠANAS INDIKĀCIJA**

,CHANG Medium *In Situ*" (Čanga barotni *In situ*) var lietot tālāk norādītajos gadījumos.

- Augla ūdens šūnu primārā kultivēšana.
- Pārsētu augla ūdens šūnu audzēšana.
- Kompaktajam amnija audiem, kas iegūti horiju bārkšņu parauga izmeklēšanā.

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

IERĪCES APRAKSTS

,CHANG Medium *In Situ*" izstrādāja cilvēka augla ūdens šūnu primārajai kultivēšanai, lai veiktu kariotiņu noteikšanas un citus antenatalos genētiskos testus. Šīs sastāvs ir optimizēts izmantošanai ar *in situ* metodēm.

SASTĀVDALAS

Aminokābes	Sāli un joni
Alanīns	Nātrija hlorīds
Argīnīns	Kālijas hlorīds
Asparagīns	Nātrija fosfāts
Asparagīnskābe	Kālijas fosfāts
Cisteīns	Kalcija hlorīds
Cistīns	Magnija sulfāts
Glutamīnskābe	Holīna hlorīds
Glutamīns	Magnija hlorīds
Glicīns	Nātrija selenīts
Histidīns	Vara sulfāts
Izoleiçīns	Dzelzs sulfāts
Leiçīns	Cinka sulfāts
Lizīns	Proteīni, hormoni un augšanas faktori
Metionīns	Lielupu embrujo serums
Fenilalanīns	Lielupu jaundzīmiso tēļu serums
Prolīns	Treoniņš
Serīns	Fibroblastu augšanas faktors (fibroblast growth factor – FGF)
Treoniņš	Transferīns
Triptofāns	Insulīns
Tirozīns	Progesterons
Valīns	Biotīns
Bufērskādums	Riboflavīns
Nātrija bikarbonāts	Askorīnskābe
Vitamīni un mikroelementi	Nukleīnskābes
Biotīns	Citīdiņš
Riboflavīns	Dezoksiadenozīns
Askorīnskābe	Dezoksicitidīns
Folijiskskābe	Dezoksičiyanozīns
Nikotīnskābe	Guanozīns
Pantotēnskābe	Timidīns
Pirkodisks	Urīdiņš
Pirkodisks	Adenoīns
Timiāns	Hipokontīns
Vitaminīns B12	Antioksīdants
Enerģijas substrāti	Tiotiānskābe
Glikoze	Citas
Inozītois	Etilspīrs
Pirūvāts	Putresīns
pH indikators	
Fenosarkanasī	

KVALITĀTES NODROŠINĀŠANA**STERILITĀTE**

,CHANG Medium *In Situ*" rāzošānā izmantotais serumus pārbaudīts, lai noteiku virusālo piesārojumu, saskaņā ar nosacījumiem Federālo normatīvo aktu kodeksa (*Code of Federal Regulation – CFR*) 9. sadaļas 113.53. nodalāj. Tas pārbaudīts arī, lai noteiku piesārojumu ar mikoplazmu.

,CHANG Medium *In Situ*" ir sterilizēta, filtrējot caur 0,1 mikrona filtru. ,CHANG Medium *In Situ*" paraugi pārbaudīti, lai noteiku iespējamo bakteriālo piesārojumu, atbilstoši sterilitātes testēšanas protokolam, kas aprakstīts pašreizējā ASV Farmakopejas (USP) sterilitātes testā <71>.

SAGATAVOŠĀNA LIETOŠANAI

- Ātri atkausējiet „CHANG Medium *In Situ*”, pudeli virpinot 37 °C ūdens vannā.
- Ja vēlams, var pievienot antibiotikus.

„CHANG MEDIUM *In Situ*” DALĪŠANA ALIKVOTĀJĀS DALĀS

- Atkausējiet „CHANG Medium *In Situ*” atbilstoši norādījumiem.
- Aseptiskā veidā sadaliet piemērotā lieluma alikvotās dalās un atkārtoti sasaudejiet.
- Alikvotās dalās atkausējiet 37 °C ūdens vannā, kad esat gatavi tās lietot.

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 valīgā uzliktu aizbāzni uz apmēram 30 minūtēm ieviejojot 5–8 % CO₂ inkubatorā.

Galiņajam pH līmenim jābūt 6,8–7,2.

,CHANG Medium *In Situ*" lietošana primārajai kultivēšanai: *in situ* metodes

- Centrifugējiet augla ūdeni ar nelielu ātrumu, lai koncentrētu šūnas.
- Šūnu lodiņi atkārtoti suspendējiet nelielā daudzumā pašā pacienta augla ūdens. Piemēram, aspirējiet supernatantu no 10 ml augla ūdens centrifugātā līdz 0,5 ml virs šūnu lodiņes un atkārtoti suspendējiet. Koncentrējātai šūnu suspensijai pievienojiet pietiekamu daudzumu „CHANG Medium *In Situ*”, lai iegūtu galīgo uzsēšanas daudzumu 0,5 ml uz katru segstiklīnu (pavism 4 segstiklīji) vai 2 ml uz flakonu.
- Ne traucēti inkubējiet kultūras 37 °C temperatūrā 5–8 % CO₂ vidē.
2. dienā uzplūdiniet kultūras, pievienojiet 2 ml „CHANG Medium *In Situ*”.
- Pēc 4–5 dienām jāpārbauda kultūru augšana. Tiekīdz novēro augšanu, kultūras jāpāpildina. Papildiniet kultūras, noņemot visu kultūras supernatantu un aizveidojot to ar 2 ml svaigas „CHANG Medium *In Situ*”. 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.
7. Vislabākos rezultātus iegūst, ja kultūras papildina ar „CHANG Medium *In Situ*” vienu dienu pirms ievāšanas.

,CHANG Medium *In Situ*" izmantošana pārsētu augļa ūdens šūnu audzēšanai

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

Piezīme: barotnē „CHANG Medium *In Situ*” parasti veidojas kalcijs oksalāta kristāli. Nav novērots, ka šie kristāli radītu jebkādu nevēlamu ietekmi uz produkta veikspēju.

GLĀBĀŠANA UN STABILITĀTE

,CHANG Medium *In Situ*" glābāt sasaldētu –10 °C temperatūrā. Neizlieto „CHANG Medium *In Situ*” var sasaldēt atkārtoti vai glābāt 2–8 °C temperatūrā.

Aizsargājiet no fluorescējošas gaismas.

Attiecīgo derīguma termiju skaitit pudeles etiketē. „CHANG Medium *In Situ*” drīkst sasaldēt atkārtoti ne vairāk par 2 reiziem un glābāt atkausētu 2–8 °C temperatūrā 14 dienas, neietekmējot tās funkciju. Glābāt ilgāk par 14 dienām nav ieteicams.

PIESARDZĪBAS PASĀKUMI UN BRĪDINĀJUMI

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

Nelietojiet nevienu pudeli, kurai ir bojāts sterilais iestaiņojums.

,CHANG Medium *In Situ*" nelietot pēc derīguma termina, kas norādīts etiketē.

NEDERLANDS**INDICATIE VOOR GEBRUIK**

CHANG Medium *In Situ* kan worden gebruikt voor de volgende toepassingen:

- de primaire kweek van vruchtwatercellen
- het groeien van gepasseerde vruchtwatercellen
- vast ammoniweefsel van een chorionvillusbloosje.

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

BESCHRIJVING VAN HET HULPMIDDEL

CHANG Medium *In Situ* is ontwikkeld voor de primaire kweek van menselijke vruchtwatercellen voor gebruik bij karyotyping en ander prenataal genetisch onderzoek. Deze formule is geoptimaliseerd voor *in situ*-methodes.

COMPONENTEN

Aminozuren	pH-indicator
Alanīne	Fenolrood
Argīnīne	Zouten in ionen
Asparagine	Natriumchloride
Asparaginezuur	Kaliumchloride
Cisteīne	Natriumfosfaat
Cystine	Kaliumfosfaat
Glutaminezuur	Calciumchloride
Glutamine	Magnesiumsulfat
Glycine	Cholinechloride
Histidīne	Magnesiumchloride
Isoleucīne	Natriumselemit
Leucīne	Cupriolefaat
Lysīne	Ferrofelaat
Methionīne	Zinksulfat
Fenyłalanīne	Eiweiß-hormonen en groeiactoren
Prolīne	Foetale runderserum
Treonīne	Pasgeboren kalfserum
Tryptofaan	Fibroblast groefactor (FGF)
Tyrosīne	Transferīne
Valīne	Insulīne
Buffer	Progesteron
Natriumbicarbonaat	Testosteron
Vitamīnen en spoorelementi	B-oestradiol
Biotīne	Hydrocorisol
Riboflavīne	Nucleinezuuren
Ascorbinezuur	Cytidine
Foliumzuur	Deoxyadenosine
Nicotinezuur	Deoxycytidine
Pantothēnezuur	Deoxyguanosine
Pyridoxaal	Guanosine
Pyridoxīne	Thymidine
Thiamīne	Uridine
Vitamine B12	Adenosine
Energiesubstraten	Hypoxanthine
Glucose	Antioxidant
Inositol	Alfa-liponzuur
Pyruvaat	Ovige

KWALITEITSBORING**STERILITEIT**

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

VOORBEREIDING OP HET GEBRUIK

- Ontdooi CHANG Medium *In Situ* snel door de fles in een waterbad van 37 °C rond te draaien.
- Voeg desgewenst antibiotica toe.

OPDELEN VAN CHANG MEDIUM *In Situ*

- Ontdooi CHANG Medium *In Situ* volgens de aanwijzingen.
- Verdeel op aseptische wijze in praktische hoeveelheden en vries deze opnieuw in.
- Ontdooi de delen net voor gebruik in een waterbad van 37 °C.

GEBRUIKSAANWIJZING

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

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

Gebruik van CHANG Medium *In Situ* voor primaire kweeken: *in situ*-methode

- Centrifuge het vruchtwater op lage snelheid om de cellen te concentreren.
- Resuspendeer de celpellet in een kleine hoeveelheid eigen vruchtwater van de patiënt. Voorbeeld: Aspireer het supernatant van 10 ml geconcentreerd vruchtwater tot 0,5 ml boven de celpellet en resuspendeer. Voeg voltooidende CHANG Medium *In Situ* aan de geconcentreerde celuspensie toe tot een eindvolume van 0,5 ml per dekglaasje (4 dekglaasjes in totaal) of 2 ml per flesje is verkregen.
- Zet de kweken ongestoord in de incubator bij 37 °C en 5%-8% CO₂-atmosfeer.
- Bedeck de kweken op dag 2 volledig door 2 ml CHANG Medium *In Situ* toe te voegen.
- Controleer na 4 à 5 dagen of de kweken zijn gegroeid. Nadat is vastgesteld dat de kweken groeien, moeten ze worden gevoed. Voed de kweken door al het kweeksupernatant te verwijderen en te vervangen door 2 ml vers CHANG Medium *In Situ*. Aanbevolen wordt de kweken daarna elke twee dagen te voeden.
- Controleer de kweken op of na dag 5 op groei en oogst als er voldoende kolonien worden waargenomen.
- De beste resultaten worden verkregen als de kweken op de dag voor het oogsten met CHANG Medium *In Situ* worden gevoed.

Gebruik van CHANG Medium *In Situ* voor het groeien van gepasseerde vruchtwatercellen:

Passeer de cellen door de kweken met trypsin (of pronase etc.) te behandelen, zoals u dat normaal gesproken zou doen bij cellen die in een traditioneel medium gekweekt zijn. Proteasebehandeling dient echter zorgvuldig in de gaten te worden gehouden. Vruchtwatercellen die in CHANG Medium *In Situ* 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: Vaak vormen er zich calciumoxalaatkristallen in CHANG Medium *In Situ*. Uit onderzoek is gebleken dat de aanwezigheid van deze kristallen geen nadelige invloed heeft op de prestaties van het product.

BEWAREN EN STABILITEIT

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

Bescherm tegen fluorescentielicht.

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

VOORZORGSMAAATREGELEN EN WAARSCHUWINGEN

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

Gebruik geen flessen waarvan de steriele verpakking beschadigd is.

Gebruik CHANG Medium *In Situ* niet na de houdbaarheidsdatum op het etiket.

POLSKI

PRZEZNACZENIE

Pożywkę CHANG Medium *In Situ* może być stosowana w przypadku:

1. hodowli pierwotnej komórek płynu owodniowego
2. wzrostu pasażowanych komórek płynu owodniowego
3. litę tkanki owodniowej z biopsji kosmków kosmówkowi

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

OPIS WYROBU

Pożywkę CHANG Medium *In Situ* opracowano dla hodowli pierwotnej ludzkich komórek płynu owodniowego przeznaczonych do karionotypowania i wykonywania innych prenatalnych testów genetycznych. Niniejszy skład zoptymalizowano dla metod *in situ*.

SKŁADNIKI

Aminokwasy	Sole i jony
Alanina	Chlorek sodu
Arginina	Chlorek potasu
Asparagina	Fosforan sodu
Kwas asparagineowy	Fosforan potasu
Cysteina	Chlorek wapnia
Cystyna	Siarczan magnezu
Kwas glutaminowy	Chlorek cholinu
Glutamina	Chlorek magnezu
Glycyna	Selenian sodu
Histydyna	Siarczan miedzi
Izoleucyna	Siarczan żelaza
Leucyna	Siarczan cynku
Lizyna	Białka, hormony i czynniki wzrostu
Metionina	Plodowa surowica bydlęca
Fenyloalanina	Surowica noworodzonych cięta
Prolina	Czynniki wzrostu fibroblastów (FGF)
Seryna	Transferyna
Treonina	Insulina
Tryptofan	Progesteron
Tyrozyna	Testosteron
Walina	B-estradiol
Bufor	Hydrokortyzon
Wodorowęglan sodu	Kwasy nukleinowe
Witaminy i pierwiastki śladowe	Cytidyna
Biotyna	Deoksydadenozyna
Ryboflawina	Deoksycytidyna
Kwas askorbinowy	Deoksuguanozyna
Kwas foliowy	Guanozyna
Kwas nikotynowy	Tymidyna
Kwas pantotenowy	Urdynyna
Pirydoksal	Adenozyna
Pirydoksyna	Hipoksantyna
Tiamina	Antyoksydant
Witamina B12	Kwas iloołkaniowy
Substraty energetyczne	Inne
Glukoza	Alkohol etylowy
Inozytol	Putrescyna
Pirogronian	
Wskaznik pH	
Czerwień fenolowa	

ZAPEWNIANIE JAKOŚCI

STERYLNOŚĆ

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

PRZYGOTOWANIE DO UŻYCIA

1. Szybko rozmrzcić pożywkę CHANG Medium *In Situ*, obracając butelkę w laźni wodnej nastawionej na temperaturę 37°C.
2. W razie potrzeby można dodać antybiotyki.

ROZDZIELANIE POŻYWKI CHANG MEDIUM *IN SITU NA PORCJE*

1. Rozmroź pożywkę CHANG Medium *In Situ* zgodnie z instrukcjami.
2. W sposób aseptyczny rozdzielić pożywkę na porcje o odpowiednim rozmiarze, a następnie zamrozić ponownie.
3. Gdy porcje będą gotowe do użycia, rozmrzci je w laźni wodnej nastawionej na temperaturę 37°C.

INSTRUKCJA UŻYCIA

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

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

Stosowanie pożywki CHANG Medium *In Situ* dla hodowli pierwotnych: metody *in situ*

1. Odwrócić płyn owodniowy przy niskiej prędkości, aby zateżyć komórki.
2. Zawiesić osad komórkowy w malej objętości płynu owodniowego pacjentki. Na przykład zaaspirować nadając z 10 ml odwierowanego płynu owodniowego do 0,5 ml nad osadem komórkowym, a następnie zawiesić osad. Dodaj wystarczającą ilość pożywki CHANG Medium *In Situ* do zatężonej zawiesiny komórkowej, aby uzyskać końcową objętość posiewu równą 0,5 ml na szklisko nakrywkowe (łącznie 4 szklinka nakrywkowe) lub 2 ml na butelek hodowlanej.
3. Inkubować hodowle w temperaturze 37°C w atmosferze 5%-8% CO₂, nie zakłócając ich.
4. W dniu 2. zalać hodowle, dodając 2 ml pożywki CHANG Medium *In Situ*.
5. Po 4–5 dniach sprawdzić wzrost hodowli. Po zaobserwowaniu wzrostu należy zasilić hodowle pożywką. Zasilić hodowle pożywką, usuwając cały nadając hodowli i zastępując go 2 ml świeżej pożywki CHANG Medium *In Situ*. Po wykonaniu tej czynności zalecanie jest zasilanie hodowli pożywką co 2 dni.
6. Sprawdzić wzrost hodowli w 5. dniu lub w późniejszych dniach i zebrać komórki, jeśli zaobserwowano wystarczającą liczbę kolonii.
7. Najlepsze wyniki otrzymywano, gdy zasiliano hodowle pożywką CHANG Medium *In Situ* dzień przed zbiorami.

Stosowanie pożywki CHANG Medium *In Situ* do prowadzenia hodowli pasażowanych komórek płynu owodniowego:

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

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

PRZECHEWYWANIE I STABILNOŚĆ

Przechowywać pożywkę CHANG Medium *In Situ* zamarzniętą w temperaturze -10°C. Niezużytą pożywkę CHANG Medium *In Situ* można zamrozić ponownie lub przechowywać w temperaturze od 2°C do 8°C.

Chronić przed światłem fluorescencyjnym.

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

ŚRODKI OSTROŻNOŚCI I OSTRZEŻENIA

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

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

Nie używać pożywki CHANG Medium *In Situ* po upływie terminu ważności podanego na etykiecie.

INDICAȚIE DE UTILIZARE

CHANG Medium *In Situ* se poate utiliza pentru următoarele întrebunțințări:

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

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

DESCRIEREA DISPOZITIVULUI

CHANG Medium *In Situ* a fost realizat pentru cultura primară a celulelor din lichidul amniotic uman în vederea utilizării pentru cariotipare și alte teste genetice prenatale. Formula a fost optimizată pentru metodologia *in situ*.

COMPONENTE

Aminoacizi	Săruri și ioni
Alanină	Clorură de sodiu
Arginină	Clorură de potasiu
Asparagină	Fosfat de sodiu
Acid aspartic	Fosfat de potasiu
Cisteină	Clorură de calciu
Cistină	Sulfat de magneziu
Acid glutamic	Clorură de colină
Glutamină	Clorură de magneziu
Glicină	Selenit de sodiu
Histidină	Sulfat de cupru
Izoleucină	Sulfat feros
Leucină	Sulfat de zinc
Lizină	<u>Proteine, hormoni și factori de creștere</u>
Metionină	Ser fetal bovin
Fenilalanină	Ser neonatal bovin
Prolină	Factor de creștere a fibroblastilor (FCF)
Serină	Transferină
Treonină	Insulină
Triptofan	Progesteron
Tirozină	Testosteron
Valină	B-estradiol
Solutie tampon	Hidrocortizon
Bicarbonat de sodiu	Acizi nucleici
Vitamine și oligoelemente	Citidină
Biotină	Deoxadenozină
Riboflavină	Deoxicitidină
Acid ascorbic	Deoxyguanozină
Acid folinic	Guanozină
Acid nicotinic	Timidină
Acid pantotenic	Uridină
Piridoxal	Adenozină
Piridoxină	Hipoxantină
Tiamină	Antioxidant
Vitamina B12	Acid folic
Substraturi energetice	Altele
Glucoză	Alcool etilic
Inozitol	Putrescina
Piruvat	
Indicator pH	
	Roșu de fenol

ASIGURAREA CALITĂȚII**STERILITATE**

Serul utilizat la producerea CHANG Medium *In Situ* a fost testat pentru a nu fi contaminat viral, în conformitate cu CFR Titlu 9 Partea 113.53. Acesta a fost de asemenea analizat pentru detectarea contaminării cu mycoplasma.

CHANG Medium *In Situ* este sterilizat prin filtrare printr-un filtru de 0,1 microni. Probe de CHANG Medium *In Situ* sunt testate pentru a nu prezenta o posibilă contaminare bacteriologicală după protocolul de testare a sterilității descris în testul de sterilitate actual prevăzut de Farmacopeea Americană <71>.

PREGĂTIREA PENTRU UTILIZARE

1. Dezghetați rapid CHANG Medium *In Situ* prin agitarea flaconului într-o baie de apă la 37°C.
2. Dacă se dorește, se pot adăuga antibiotice.

REPARTIZAREA ÎN PĂRȚI ALICOTE A CHANG MEDIUM *In Situ*

1. Dezghetați CHANG Medium *In Situ* în conformitate cu instrucțiunile.
2. Distribuiți aseptic în părți alicate de mărime convenabilă și recongeleți.
3. Dezghetați părțile alicate într-o baie de apă la 37°C atunci când sunt gata pentru utilizare.

INSTRUCȚIUNI DE UTILIZARE

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

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

Utilizarea CHANG Medium *In Situ* pentru culturi primare: metodologii *in situ*

1. Centrifugăți lichidul amniotic la viteza redusă pentru a concentra celulele.
2. Resuspendați peletea cu celule într-un volum mic din propriul lichid amniotic al pacientelui. 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 *In Situ* 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 flaconă.
3. Incubați culturile fără a le agita la 37°C într-o atmosferă de CO₂ 5%-8%.
4. Inundați culturile în ziua 2 prin adăugarea a 2 ml de CHANG Medium *In Situ*.
5. După 4 sau 5 zile, culturile trebuie verificate pentru a se vedea dacă există creștere. Odată ce s-a observat creșterea, culturile trebuie hrănite. Hrăniți culturile prin îndepărțarea întregului supernatant al culturii și înlocuirea cu 2 ml CHANG Medium *In Situ* proaspăt. Se recomandă hrănirea în continuare a culturilor la fiecare 2 zile.
6. Controlați culturile pentru a vedea dacă există creștere în/sau după ziua 5 și recoltați atunci când se observă suficiente colonii.
7. Cele mai bune rezultate se obțin atunci când culturile sunt hrănite cu CHANG Medium *In Situ* în ziua anterioară recoltării.

Utilizarea CHANG Medium *In Situ* pentru creșterea celulelor din lichidul amniotic pasajate:

Pentru a pasaja celulele, tratați culturile cu tripsină (sau pronază etc.), aşa cum ati 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 *In Situ* 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.

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

DEPOZITARE ȘI STABILITATE

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

Protejați de lumina fluorescentă.

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

PRECAUȚII ȘI AVERTISMENTE

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

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

Nu utilizați CHANG Medium *In Situ* după data expirării indicată pe eticheta individuală.

SVENSKA**INDIKATIONER**

CHANG Medium *In Situ* kan användas för följande tillämpningar:

1. primärödling av celler i amniovätska
2. odling av celler från amniovätska från passage
3. fast amniovävnad från chorionvillibiopsi.

Delta medium har lagts fram för användning i en CO₂-incubator (kulturen ekviliberas i en atmosfär med 5-8 % CO₂).

PRODUKTBESKRIVNING

CHANG Medium *In Situ* har utvecklats för primärödling av celler i human amniovätska för karyotypbestämning och andra antenatala genetiska tester. Denna näringslösning har optimeras för *in situ*-metoder.

KOMPONENTER

Aminosyror	pH-indikator
Alanin	fenolrött
Arginin	salter och joner
Asparagin	natriumklorid
Asparaginsyra	kaliumpotassat
Cystein	kaliumpotassat
Cystin	kaliumklorid
Acid glutamic	magneziumsulfat
Glutamin	kolinklorid
Glycin	magnesiumklorid
Histidin	natriumselenit
Isoleucin	kopparsulfat
Leucin	ferrosulfat
Lysin	Zinksulfat
Metionin	proteiner, hormoner samt tillväxtfaktorer
Fenyloalanin	prolin
Prolin	serin
Serin	fetalt bovint serum
Treonin	serum från nyfodda kalvar
Tryptofan	fibroblasttillväxtfaktor (FGF)
Tirozin	transferrin
Valin	buffert
Buffert	insulin
Natriumbikarbonat	progesteron
Vitaminer och spärmen	testosteron
Biotin	betaestradiol
Riboflavin	hydrokortison
Ascorbinsyra	nukleinsyror
Folsyra	cytidin
Nikolinsyra	deoxiadenosin
Pantotsyra	deoxyctydin
Pyridoxal	deoxyguanosin
Pyridoxin	tymidin
Tiamin	uridin
Vitamin B12	adenosin
Energisubstrat	hypoxantin
Glukos	antioxidant
Inositol	tioktinsyra
Piruvat	övrigt
	etylalkohol
	putrescin

KVALITETSSÄKRING**STERILITET**

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

BEREDNING FÖR ANVÄNDNING

1. Tina upp CHANG Medium *In Situ* snabbt genom att snura flaskan i ett 37 °C vattenbad.
2. Antibiotika kan tillsättas om så önskas.

ALIKVOTERING AV CHANG MEDIUM *In Situ*

1. Tina upp CHANG Medium *In Situ* snabbt genom att snura flaskan i ett 37 °C vattenbad.
2. Fordela mediet aseptiskt i alkivoterter av lämplig storlek och frys ner dem på nytta.
3. Tina upp alkivoterter i ett 37 °C vattenbad när de ska användas.

BRUKSANVISNING

pH i det medium som används som näringssubstrat till kulturen 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-incubator med locket något lossat, under cirka 30 minuter.

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

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

1. Centrifugera amnioväskan på låg hastighet för att koncentrera cellerna.
2. Resuspendera cellpelleten i en liten volym av patientens egen amniovätska. Aspirera t.ex. supernatanten från 10 ml centrifugeras amniovätska till 0,5 ml ovenför cellpelleten och resuspendera. Tillsätt tillräckligt med CHANG Medium *In Situ* till den koncentrerade celluspensionen för att möjliggöra en sluttig plattvolym på 0,5 ml per täckglas (totalt 4 täckglas), eller 2 ml per flaska.
3. Inkubera kulturena, utan att stora dem, vid 37 °C i 5-8 % CO₂-atmosfär.
4. Flöda kultureerna på dag 2 genom att tillsätta 2 ml CHANG Medium *In Situ*.
5. Efter 4-5 dagar bör kultureerna kontrolleras med avseende på växt. Närng bör tillföras till kulturen så snart växt har observerats. Tillför näring till kulturen genom att avlägsna all supernatant från kulturen och ersätta den med 2 ml färskt CHANG Medium *In Situ*. Det rekommenderas att därefter tillföra näring till kulturen varannan dag.
6. Kontrollera kulturena med avseende på växt på/efter dag 5 och skördar dem när tillräckligt många kolonier observeras.
7. Bästa resultat erhålls när kulturena tillförs näring med CHANG Medium *In Situ* dagen innan de skörs.

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

För passage av cellerna, behandla kulturena med trypsin (eller pronas etc.) så som normalt sker vid odling av celler i konventionellt medium. Proteasbehandlingen bör dock nog överväkas. Celler från amniovätska som odlas i CHANG Medium *In Situ* tenderar att vara känsliga för proteasbehandling än celler från amniovätska som odlas i konventionellt medium. Ert protokoll kan behöva modifieras för att ta hänsyn till detta.

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

FÖRVARING OCH HÅLLBARHET

Förvara CHANG Medium *In Situ* fryst vid -10 °C. Oanvänt CHANG Medium *In Situ* kan frysas ned på nytta eller förvaras vid 2-8 °C.

Skyddas mot fluorescerande ljus.

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

FÖRSIKTIGHETSÄTGÄRDER OCH VARNINGAR

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

Flaskor vars sterila förpackning inte är intakt får inte användas.

Använd inte CHANG Medium *In Situ* efter det utgångsdatum som anges på etiketten.

NÄIDUSTUS KASUTAMISEKS

Toode CHANG Medium *In Situ* võib kasutada järgmistel eesmärkidel:

1. Lootedelikku rakkude primaarne kultuurimine
2. Tööstetud lootedelikku rakkude kasvatamine
3. Tahke lootekude koorioni hattude proovist

See sõöde on mõeldud kasutamiseks CO₂ inkubaatorites (5–8% CO₂ keskkonnas (asakaalustatud kultuurid).

SEADME KIRJELDUS

CHANG Medium *In Situ* töötati välja inimese lootevedeliku rakkude primaarseks kultuurimiseks karuötupimise ja muude sunnileetse geeneliste fesilide tegemise eesmärgil. Koostis on optimeeritud *in situ* metodoloogiateks.

OSAD

Aminohapped	Soolad ja ionoid
Alanini	Naatriumkloriid
Arginin	Kaaliumpotassaat
Asparaglin	Kaaliumpotassaat
Asparagiinhape	Kaaliumpotassaat
Tsüsteini	Kaltsiumkloriid
Tsüstini	Magneesiumsulfaat
Glutamiinhape	Kolinikloriid
Glutamini	Magneesiumkloriid
Glütsini	Naatriumselenit
Histidini	Vaskfusfaat
Isoleotiini	Raudsulfaat
Leutsini	Tsinksulfuaat
Lüsini	Valgud, hormoonid ja kasvufaktorid
Metioniini	Veiseoleto päritolu seerum
Fenüülalaniini	Vastundinud veise päritolu seerum
Prolin	Fibroplastide kasvufaktor (FGF)
Türosini	Transferrin
Vallini	Insulin
Puhver	Progesteron
Naatriumvesinikkarbonaat	Testosteroon
Vitaminiid ja mikroelemendid	B-östradiol
Biotini	Hidrokortisoloon
Riboflavini	Nukleinhapped
Askorbiinhape	Tsütidin
Foolapuu	Deoksuadenosiin
Nicotinihape	Deoksutsütidin
Pantoteenihape	Deoksuuganosiin
Pürídkoskaal	Guanosiin
Pürídkoskiin	Tümidin
Tiamini	Uridin
Vitaminini B12	Adenosin
Energia substraadid	Hüpokantsin
Glükooos	Antikosudant
Inositol	Lipoehape
Püruvaat	Muud
pH-indikaator	Etüüdalkohol
Fenoolpunane	Putrestesiin

KVALITEEDI TAGAMINE

STERIILSUS

CHANG Medium *In Situ* tootmisel kasutatav seerum on testimüst viraaalse suhtes CFR pikk 9 osa 113.53 järgi. Samuti on seda testimüst mükoplasma suhtes. CHANG Medium *In Situ* on steriliseeritud filtreerimise teel läbi 0,1-mikroni filtri. Toote CHANG Medium *In Situ* provee on võimalikku bakterioloogilise saarte suhtes testimüst steriliituse katseprotokoli järgi, mida on kirjeldatud kehitlus USP steriliustestis <7>.

ETTEVALMISTUSED KASUTAMISEKS

1. Sulatage CHANG Medium *In Situ* juhiste kohaselt.

2. Jaotage asepiliiselt sobiva surusega alkivoolideks ja kulmitage uesti.

3. Vajaduse korral võib lisada antibiotikume.

CHANG MEDIUM *In Situ* ALIKVOOTIMINE

1. Sulatage CHANG Medium *In Situ* juhiste kohaselt.

2. Jaotage asepiliiselt sobiva surusega alkivoolideks ja kulmitage uesti.

3. Kui olete valmis kasutamiseks, sulatage alikvooid 37 °C veevannis.

KASUTUSJUHEND

Kultuuride sootkiteks kasutatava sõltume pH peab olema vahemikus 6,8–7,2 (si sõõde peab olema kergelt kollakasoranž). pH-d on lihtne kohandada, asetades sõltume ümbes 30 minutiks kergelt lahti keeratud korgiga 5–8% CO₂ inkubaatoriisse.

pH lõppnäit peab olema 6,8–7,2.

Toote CHANG Medium *In Situ* kasutamine primaarkultuurile korral: *in situ* metodoloogiad

1. Tsentrifugiluge lootevedelikku väiksel kiriusest, et rakke kontseptreerida.
2. Resuspendeerge rakupellet väheses patsiendi enda lootevees. Naiteks võite aspireerida 10 ml tsentrifugitud lootevedelikku supernatanti 0,5 ml vörre rakupelleti kohale ja resuspendeerida. Lisage kontsentreeritud rakuuspensionile pilssavalt toodet CHANG Medium *In Situ*, et igale slaidile oleks võimalik kanda 0,5 ml (kokku 4 slaidi), või 2 ml rakuvasatpusudeli kohta.
3. Inkuberge kultuure segamalutatud temperatuuril 37 °C 5–8% CO₂ keskkonnas.
4. 2. päeval katke kultuurid üle 2 ml tooteaga CHANG Medium *In Situ*.
5. 4–5 päeva järel tuleb kontrollida kultuuride kasvu. Kasvu tuvastamisel tulub kultuure toita. Tolte kultuure, eemaldades kogu kultuuri supernatandi ja asendades selle 2 ml värse CHANG Medium *In Situ*. Seejärel on soovitatav toita kultuure iga 2 päeva järel.
6. Kontrollige kultuuride kasvu 5. päeval või pärast seda ning koguge, kui tuvastate piisavat kolooniad.
7. Parimtulemusel saavutatakse kultuuride toitmisel tooteaga CHANG Medium *In Situ* üks päev enne kogumist.

Toote CHANG Medium *In Situ* kasutamine tööstetud lootevedeliku rakkude kasvatamiseks:

Rakkude töötmiseks töödelge kultuure trüpsiiniga (või pronaasiing vms) nagu tavapärasel rakkude kasvatamisel tavases sootmes. Proteasiga töötlemist tuleb hoida kallalt jälgida. CHANG Medium *In Situ* tööstetud lootevedeliku rakud kipuvad olema proteaseüülisse suhtes tundlikumad kui tavapäraseks soolmes kasvatatud lootevedeliku rakud. Sellega arvestamiseks tuleb võib-olla muuta protokoli.

Markus. Toote CHANG Medium *In Situ* tekib sageli kaltsumoomsaladi kristalle. Nende kristallide esinemine ei ole põhjustanud kahjulikku toimet toote joudlusele.

SÄILITAMINE JA STABIILSUS

Säilitage toode CHANG Medium *In Situ* külmatautult temperatuuril –10 °C. Kasutamata CHANG Medium *In Situ* võib uesti külmataud või säilitada temperatuuril 2–8 °C.

Kaitseks fluoresentsvalguse eest.

Aegumiskuupäeva vaadake pudelit elikellit. Toode CHANG Medium *In Situ* võiesit külmataud kuni 2 korda ning seda võib sulatatakse täiendatud temperatuuril 2–8 °C 14 päeva. Ilma et see mõjutaks toote funktsionaalsust. Toode ei ole soovitatav säilitada üle 14 päeva.

ETTEVAATUSABINÖÖUD JA HOIATUSED

See seade on ette nähtud kasutamiseks tervishoiutoötajatele, kes on saanud koolituse selle seadme sihtotstarbelise kasutamise alal.

Ärge kasutage ühtki pudelit, mille steriilne pakend on rikitud.

Ärge kasutage toode CHANG Medium *In Situ* parast toote etikelli näidatud aegumiskuupäeva.

MAGYAR**FELHASZNÁLÁSI JAVALLATOK**

A CHANG Medium *In Situ* a következőre használható:

1. az amniotikus folyadék sejtjeinek elsődleges tenyészése;
2. az amniotikus folyadék passzált sejtjeinek növezsése;
3. szilárd amionszövet mintavételezésre chorionbolyhokból.

Ez a médiumot CO₂-inkubátorban (5–8%-os CO₂-atmoszférával ekvilibrált tenyészetelek) történő használatra terveztek.

TERMÉKISMERTETÉS

A CHANG Medium *In Situ* a humán amniotikus folyadék sejtjeinek elsődleges tenyészésére lett kifejlesztve, kariotípus meghatározásához és más antenatalis genetikai vizsgálatokhoz. Az összetétel *in situ* módszerhez optimalizálták.

ÖSSZETEVŐK

Aminosavak	Sök és ionok
Alanini	Naatrium-klorid
Arginin	Kaaliumpotassaat
Asparaglin	Kaaliumpotassaat
Asparagiinhape	Kaaliumpotassaat
Tsüsteini	Kaltsiumkloriid
Tsüstini	Magneesiumsulfaat
Glutamiinhape	Kolinikloriid
Glutamini	Magneesiumkloriid
Glütsini	Naatriumselenit
Histidini	Vaskfusfaat
Isoleotiini	Raudsulfaat
Leutsini	Tsinksulfuaat
Lüsini	Valgud, hormoonid ja kasvufaktorid
Metioniini	Veiseoleto päritolu seerum
Fenüülalaniini	Vastundinud veise päritolu seerum
Prolin	Fibroplastide kasvufaktor (FGF)
Türosini	Transferrin
Vallini	Insulin
Puhver	Progesteron
Naatriumvesinikkarbonaat	Testosteroon
Vitaminiid ja mikroelemendid	B-östradiol
Biotini	Hidrokortisoloon
Riboflavini	Nukleinhapped
Askorbiinhape	Tsütidin
Foolapuu	Deoksuadenosiin
Nicotinihape	Deoksutsütidin
Pantoteenihape	Deoksuuganosiin
Pürídkoskaal	Guanosiin
Pürídkoskiin	Tümidin
Tiamini	Uridin
Vitaminini B12	Adenosin
Energia substraadid	Hüpokantsin
Glükooos	Antikosudant
Inositol	Lipoehape
Püruvaat	Muud
pH-indikaator	Etüüdalkohol
Fenoolpunane	Putrestesiin

A CHANG MEDIUM *In Situ* SZÉTOSZTÁSA

1. Olvassa fel a CHANG Medium *In Situ* médiumot az utasítások szerint.

2. Aszepiktusan ossza a kívánt méretű alikvotokra, és fagyassza le újra.

3. Olvassa fel az alikvotokat 37 °C-os vízfürdőben, amikor a felhasználásukra készen áll.

ÓVINTÉKDEDÉSEK ÉS FIGYELMEZTETÉSEK

Ezt a terméket azon eljárásokban képzelt személyezet általi felhasználásra szánták, amelyek során a termék alkalmazása javallott.

Ne használjon olyan üveget, amelynek a steril csomagolása megsérült.

Ne használja a CHANG Medium *In Situ* médiumot a címén feltüntetett lejárat időn túl.

ELŐKÉSZÍTÉS A FELHASZNÁLÁSRÁ

1. Olvassa fel gyorsan a CHANG Medium *In Situ* médiumot az üveg 37 °C-os vízfürdőben történő forgatásával.

2. Szükség esetén hozzáadhat antibiotikumot.

TÁROLÁS ÉS STABILITÁS

A CHANG Medium *In Situ* médiumban aprotéázkezelést a CHANG Medium *In Situ* sterilizálása előtt. A CHANG Medium *In Situ* sterilizálása 0,1 mikronos szűrőn át történő szűrésel történik. A CHANG Medium *In Situ* mintáit a jelenlegi Amerikai Gyógyszerkönyv steriliséssel vizsgálataban <7> leírt sterilításvizsgálati protokollol követve tesztelik a lehetséges bakteriologiáci szennyeződésre.

Védje a fluorescens fénytől.

Az addott lejáratú dátumra vonatkozóan lásd az üvegen található címét. A CHANG Medium *In Situ* legfeljebb kétzer fagyasszal le újra, felolvastva pedig 2 és 8 °C közötti hőmérsékleten 14 napig tárolható anélkül, hogy ez befolyásolná a funkcióját. 14 napnál hosszabb ideig tartó tárolás nem ajánlott.

LIETUVIŲ K.

NAUDOJIMO INDIKACIJA

- „CHANG Medium *In Situ*“ galima naudoti šioms paskirtims:
- amniono skyssio laštelui pirminei kultūrai;
 - auginant perkeltas amniono skyssio lašteles;
 - tvro amniono audiniui, gautam pačius chorioniniu išsaugu (gaureliu) mėginius.

Ši terpē buvo sukurta naudoti CO₂ inkubatoriuose (laštelui kultūros pusiavysyros būsenai pasiekti naudojant 5–8 % CO₂ atmosferą).

ITAISO APRAŠYMAS

„CHANG Medium *In Situ*“ terpē buvo sukurta žmogaus amniono skyssio laštelui pirminei kultūrai ir yra skirta naudoti atliekan kariotipavimai ir kitai prenatalinių genetinių tyrimų. Si formulė buvo optimizuota *in situ* metodologijoms.

SUDEDAMOSIOS DALYS

Aminorūgštis	Druskos ir ionai
Alaninas	Natrio chloridas
Argininas	Kalio chloridas
Asparaginas	Natrio fosfatas
Asparto rūgštis	Kalio fosfatas
Cisteinas	Kalcio chloridas
Cistinas	Magnio sulfatas
Glutamo rūgštis	Cholino chloridas
Glutaminas	Magnio chloridas
Glicinės	Natrio selenitas
Histidinas	Vario sulfatas
Izoleucinas	Geležies sulfatas
Leucinas	Cinko sulfatas
Lizinės	Baltymai, hormonai ir augimo faktoriai
Metioninas	Jaucio embronio krauso serumas
Fenilalaninas	Jaucio naujagimio krauso serumas
Prolinas	Fibroblasto augimo faktorius (FGF)
Serinas	Transférinas
Treoninas	Insulinės
Triptofanas	Progesteronas
Tirozinės	Testosteronas
Valinas	B-estradiolis
Buferonas ir palas	Hidrokortizonas
Natrio bikarbonatas	Nukleino rūgštis
Vitaminai ir mikroelementai	Citidinas
Biotinas	Deoksidainozinas
Riboflavinas	Deoksitidinas
Askorbo rūgštis	Dezoksiguanozinas
Folio rūgštis	Guanozinas
Nikotino rūgštis	Timidinas
Pantoteninė rūgštis	Uridinas
Piridoksalis	Adenozinės
Piridoksinas	Hipokortizinas
Tiaminas	Hipokortizinas
Vitaminas B12	Antioksidantas
Energetiniai substratai	Antioksidantas
Glukozė	Lipo rūgštis
Inozitolis	Kita
Piruvatas	Etilo alkoholis
pH indikatorius	Putrescinas
Fenolio raudonasis	

KOKYBĖS UŽTIKRINIMAS

STERILUMAS

„CHANG Medium *In Situ*“ terpēs gamyboje naudotas serumas buvo patirkintas dėl užteršimo virusais pagal CFR9 antraštine dalį, 113.53 dalį. Jis taip pat buvo patirkintas, ar nėra mikoplazmos užteršimo. „CHANG Medium *In Situ*“ terpē yra sterilizuota išfiltravus per 0,1 μ filtrą. „CHANG Medium *In Situ*“ terpēs mėginių yra ištremiai dėl galimo užteršimo bakterijomis, laikantis steriliumo tyrimo protokolo, kuris apibūdintas pagal šiuo metu patvirtintą Jungtinės Valstijų farmakopejos steriliumo testą <71>.

PARUOŠIMAS NAUDOTI

- Atsildykite „CHANG Medium *In Situ*“ terpē, greitai sukdami buteliuko 37 °C temperatūros vandens vonelėje.
- Jei pageidaujama, galima prideti antibiotikų.

„CHANG MEDIUM *In Situ*“ TERPĒS LAŠTELIAMS

- Atsildykite „CHANG Medium *In Situ*“ terpē pagal numatyta paskirtį.
- Asetiškai paskirstykite į patogaus naudoti dydžio alikvitines dalis ir pakartotinai užsaldykite.
- Kai būsite pasirengę naudoti, atsildykite alikvitines dalis 37 °C temperatūros vandens vonelėje.

NAUDOJIMO NURODYMAI

Kultūroms maitinti naudojamos terpē rūgštengumas turi būti pH 6,8–7,2 (t. y. terpē turi būti šiek tiek gelsvai lašinės spalvos), pH galima lengvai pakoreguoti terpē apie 30 minučių palaikant 5–8 % CO₂ inkubatoriuje su šiek tiek prasunktu dangteliu.

Galutinis pH turi būti 6,8–7,2.

„CHANG Medium *In Situ*“ terpē naudojimas pirminėms laštelui kultūroms: *in situ* metodologijos

- Centrifuguojite amniono skyssį nedideliu greičiu, kad koncentruotumėte lašteles.
- Resuspenduokite laštelės granulę nedideliamė kiekėje pacientės amniono skyssio. Pavyzdžiu, siurbkite 10 ml supernatano iš centrifuguoto amniono skyssio, palikdami 0,5 ml virš laštelės granulės, ir resuspenduokite. Pakankamą kiekį „CHANG Medium *In Situ*“ terpē įlašinkite į koncentruotą laštelės suspensiją, kad būtu pasiekta galutinis lėkštėles tūris – 0,5 ml vienam dengiamajam stiklėliui (iš viso – 4 dengiamieji stiklėliai) arba 2 ml vienai kolbelei.
- Kultūras netrukdomai inkubuokite 37 °C temperatūroje 5–8 % CO₂ atmosferoje.
- 4-a diena apsemkite kultūras, pridėdami 2 ml „CHANG Medium *In Situ*“ terpē.
- Po 4–5 dienų kultūras reikia patikrinti, ar auga. Pastebebėjus, kad kultūros auga, jas reikia maitinti. Maitinkite kultūras pašalinami viša kultūros paviršinių sluošnų ir pakeisdami terpē į 2 ml šviežios „CHANG Medium *In Situ*“ terpēs. Po to kultūras rekomenduojama maitinti kas 2 dienas.
- 5-ą dieną arba po 5 dienų patikrinkite kultūrų augimą iš aptink pakanckamai kolonijai lašteles surinkite.
7. Geriausią rezultatą pasiekiant kultūras maitinan „CHANG Medium *In Situ*“ terpēje, likus dienai iki kultūrų émimo.

„CHANG Medium *In Situ*“ terpēs naudojimas auginant perkeltas amniono skyssio lašteles:

Norédami perkelti lašteles, apdorokite kultūras trispinu (arba pronusa ir pan.), kaip įprasta auginant lašteles įprastinėje terpēje. Tačiau proteazės procedūra reikia atidžiai stebėti. „CHANG Medium *In Situ*“ terpēje užaugintos amniono skyssio laštelės yra jautresnių proteazės procedūrai nei amniono skyssio laštelės, užaugintos įprastinėje terpēje. Gali prireikiti pakeisti protokolą, kad galéatumėte atsižvelgti į šį faktą.

Pastaba. Dažnai „CHANG Medium *In Situ*“ terpēje susidaro kalcio oksalato kristalai. Nenustatyta, kad šiuo kristalų buvimas kaip nors pakanketu produkto funkcinės savybėms.

LAIKYMAS IR STABILUMAS

Laikykite „CHANG Medium *In Situ*“ terpē užsaldytą -10 °C temperatūroje. Nenaudota „CHANG Medium *In Situ*“ terpē galima pakartotinai užsaldyti arba laikyti atsildytą 2–8 °C temperatūroje 14 dienų (jos savybės lieka nepakitusios). Nerekomenduojama laikyti ilgiau kaip 14 dienų.

Saugoti nuo fluorescencinių spindulių.

Konkrečios galiojimo pabaigos datos ieškokite buteliuko etiketėje. „CHANG Medium *In Situ*“ terpē galima pakartotinai užsaldyti daugiausiai 2 kartus ir laikyti atsildytą 2–8 °C temperatūroje 14 dienų (jos savybės lieka nepakitusios). Nerekomenduojama laikyti ilgiau kaip 14 dienų.

ATSARGUMO PRIEMONĖS IR ĮSPĖJIMAI

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

Nenaudokite produkto, jei pažeista sterili buteliuko pakutotė.

Nenaudokite „CHANG Medium *In Situ*“ terpēs pasibaigus etiketėje urodytais galiojimo pabaigos datai.

TÜRKĘ

KULLANIM ENDİKASYONU

CHANG Medium *In Situ* su uygulamalar için kullanılabilir:

- amniotik sıvı hücrelerinin primer kültürü
- pasaj yapılmış amniotik sıvı hücrelerini üretme
- koryonik villus örneklemesinden solid amniotik doku.

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

CİHAZ TANIMI

CHANG Medium *In Situ* karyotipleme ve diğer antenatal genetik testlerde kullanılmış yönelik olarak insan amniotik sıvı hücrelerinin primer kültür için geliştirilmiştir. Bu formül *In Situ* metodolojileri için optimize edilmiştir.

BİLEŞENLER

Amino Asitler	Tuzlar ve łyonlar
Alanin	Sodyum Klorür
Arginin	Potasium Klorür
Asparaginas	Sodyum Fosfat
Asparto rūgštis	Potasium Fosfat
Cisteinas	Kalsiyum Klorür
Cistinas	Magnezyum Sulfat
Glutamino rūgštis	Kolin Klorür
Glutaminas	Glutamin
Glicinės	Sodyum Selenit
Histidinas	Kuprik Sulfat
Izoleucinas	Izolisin
Isoleucinas	Lösin
Izoleucinas	Cinko Sulfat
Izoleucinas	Proteinler, Hormonlar ve Büyüme Faktörleri
Izoleucinas	Fetal Sığır Serumu
Izoleucinas	Yenidögör Sığır Serumu
Izoleucinas	Fibroblast Büyüme Faktörü (FGF)
Izoleucinas	Transferin
Izoleucinas	İnsülin
Izoleucinas	Progesteron
Izoleucinas	Təstosteron
Izoleucinas	B-Estradiol
Izoleucinas	Hidrokortizol
Izoleucinas	Nukleik asitler
Izoleucinas	Sitidin
Izoleucinas	Deoksiadenozin
Izoleucinas	Deoksitidin
Izoleucinas	Nikotinik Asit
Izoleucinas	Deoksiguanozin
Izoleucinas	Pantonik Asit
Izoleucinas	Guanozin
Izoleucinas	Timidin
Izoleucinas	Piridoksin
Izoleucinas	Üridin
Izoleucinas	Adenozin
Izoleucinas	B12 Vitamini
Izoleucinas	Hipoksantin
Izoleucinas	Antifoksal
Izoleucinas	Tiyotik Asit
Izoleucinas	Inositol
Izoleucinas	Piruvat
Izoleucinas	Etil Alkol
Izoleucinas	pH göstergesi
Izoleucinas	Putresin
Izoleucinas	Fenol Kırmızısı

KALİTE GÜVENCE

STERİLİTE

CHANG Medium *In Situ* üretiliminde kullanılan serum CFR Başlık 9 Kism 113.53 uyarınca viral kontaminasyon için test edilmiştir. Ayrıca mikoplazma kontaminasyonu için tanınmıştır. CHANG Medium *In Situ* 0,1 mln bir filtrede filtrasyon yoluyla sterilize edilmiştir. CHANG Medium *In Situ* örnekleri mevcut Serum Testi ile <71> içinde tanımlanan sterilité testi protokoli izlenerek olası bakteriyolojik kontaminasyon açısından test edilir.

KULLANIM HAZIRLIĞI

- CHANG Medium *In Situ* ürünü bir 37 °C su banyosunda çözün.
- Istenirse antibiyotikler eklenebilir.

CHANG MEDIUM *In Situ* ALIKOLTlama

- CHANG Medium *In Situ* ürünü taliroma göre çözün.
- Uygun büyüklükte alikoltolar aseptik olarak dağın ve tekrar dondurulabilir.
- Alikoltarı kullanmaya hazır olduğunuda 37 °C su banyosunda çözün.

KULLANMA TALİMATI

Kültürleri beslemek için kullanılan vasatın pH degeri 6,8 - 7,2 olmalıdır (yanı wasif sarımsı pembe olmalıdır). pH degeri vasatı kapağı hafice gevşetilmiş olarak yaklaşık 30 dakika boyunca bir %5 - %8 CO₂ inkubatörune yerleştirerek kolayca ayarlanabilir.

Son pH 6,8 - 7,2 olmalıdır.

Primer Kultürler için CHANG Medium *In Situ* Kullanımı: *in situ* Metodolojiler

- Hücreler konsantrasyon etmek için amniotik sıvı düşük hızda santrifüleyin.
- Hücre pelletini hastanın kendi amniotik sıvısının küçük bir miktarında tekrar süspansiyon haline getirin. Örneğin santrifüjenmiş 10 mL amniotik sıvının süpernatansını hücre pelletinin 0,5 mL üzerine kadar aspire edin ve tekrar süspansiyon haline getirin. Konsantrasyon hızla süspansiyonuna larvel basın 0,5 mL (toplam 4 larvel) veya flasket başına 2 mL olacak şekilde son plakalaması hacmini mümkün kılmak üzere yeterli CHANG Medium *In Situ* ekleyn.
- Kültürleri elde edmeden 37 °C %5 - %8 CO₂ atmosferi altında inkube edin.
- Kültürleri gun 2'de 2 mL CHANG Medium *In Situ* ekleylek tamamen sıvıyla örtün.
- Kültürlerin 4 - 5 günden sonra üreme açısından kontrol edilmesi gereki. Kultürler üreme gözlemlendiği sona basnelemedi. Kultürlerin tüm kültür süpernatansını alıp yerine 2 mL yeni CHANG Medium *In Situ* koarak besleyin. Kultürlerin bundan sonra 2 günde bir basneleşmesi önerilir.
- Kültürleri 5. günde veya sonrasında üreme için kontrol edin ve yeterli koloni gözlemlenince toplayın.
- En iyi sonuçlar kültürlerin toplama önceki günde CHANG Medium *In Situ* ile beslenmesiyle alınır.

Pasaj Yapılmış Amniotik Sıvı Hücrelerini Büyütmek için CHANG Medium *In Situ* kullanımı:

Hücre pasajı yapmak için kültürler, hücreler geleneksel vasatla üretildiğinde normalde yapacağı gibi tripsis (veya Pronase vs.) muamelesi yapın. Ancak proteaz tedavisi dikkatle izlenmelidir. CHANG Medium *In Situ* içinde büyütülen amniotik sıvı hücreler geleneksel vasatla büyütülenlere göre proteaz tedavisine daha duyarlı olma eğilimindedir. Protokolünüzü buna hesaba alacak şekilde deşifirmek gerekebilir.

SAKLAMA VE STABİLİTE

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

Floresan ışıkta koruyun.

Spesifik son kullanma tarihi için şebe etiketine bakınız. CHANG Medium *In Situ* kullanım öncesi içindeki bozulmaksızın en fazla 2 kez yeniden dondurulabilir ve 2 °C - 8 °C'de 14 gün boyunca saklanabilir. 14 günden fazla saklama önerilmez.

ÖNLEMLER VE UYARILAR

Bu cihazın, cihaz kullanımının amaçlanmış olduğu belirtilen uygulamaların dahil olduğu işlemler konusunda eğitimli personelce kullanılması amaçlanmıştır.

Stier ambalajın olumsuz etkilendiği herhangi bir şevey kullanmayın.

CHANG Medium *In Situ* ürününü etiketle belirtilen son kullanma tarihinden sonra kullanmayın.

SLOVENČINA

INDIKÁCIA NA POUŽITIE

CHANG Medium *In Situ* možno použiť na nasledujúce aplikácie:

1. primárnu kultiváciu buniek plodovej vody
2. rast pasážovaných buniek plodovej vody
3. vzorkovanie pevného zárodočného tkaniva z choriových kľuk.

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

POPIS ZARIADENIA

CHANG Medium *In Situ* bolo vyvinuté na primárnu kultiváciu buniek plodovej vody na použitie pri karyotypovani a iných prenatálnych genetických testoch. Táto receptúra bola optimizovaná pre metodiky *in situ*.

ZLOŽKY

Aminokyseliny	Soli a ióny
alanín	chlorid sodný
arginín	chlorid draselný
asparagín	fosfát sodný
kyselina asparágová	fosforečnan draselný
cystein	chlorid väpenatý
cystínen	síran horečnatý
kyselina glutámová	chlorid väpenatý
glutamín	chlorid horečnatý
glycin	seleňitan sodný
histidín	síran medenatý
izoleucín	síran železnatý
leucín	síran zinečnatý
lyzin	Biekoviny, hormóny a rastové faktory
metionín	fatálne boviné sérum
fenylanín	neonátalné boviné sérum
prolin	fibroblastový rastový faktor (FGF)
serín	transférin
treonín	inzulin
tryptofán	progesterón
tyrozín	testosterón
valín	B-estradiol
Pufer	hydrokortizon
hydrogeničlitan sodný	Nukleové kyseliny
Vitamíny a stopové prvky	cytidín
biotín	deoxyadenozín
riboflavín	deoxycytidín
kyselina askorbová	deoxyguanozín
kyselina listová	guanozín
kyselina nikotínová	timidín
kyselina pantoténová	uridín
pyridoxal	adenozín
pyridoxín	hypoxantín
tlamin	Antioxidant
vitamín B12	kyselina tloktová
Energetické substráty	Iné
glukóza	etylalkohol
inositol	putrescin
pyruvát	
Indikátor pH	
fenolová červeň	

KONTROLA KVALITY

STERILITA

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

PRÍPRAVA NA POUŽITIE

1. CHANG Medium *In Situ* rýchlo rozmrazte vŕtením fláše vo vodnom kúpeli pri teplote 37 °C.
2. Ak chcete, možno pridať antibiotiká.

ALIKVOTOVANIE CHANG MEDIUM *In Situ*

1. CHANG Medium *In Situ* rozmrazte podľa pokynov.
2. Asepticky ho distribuujte do alikvót vzhodnej veľkosti a znova zmrázte.
3. Alikvóty rozmrazte vo vodnom kúpeli pri teplote 37 °C, keď sú pripravené na použitie.

NÁVOD NA POUŽITIE

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

Výsledné pH musí byť 6,8 – 7,2.

Použitie CHANG Medium *In Situ* na primárne kultúry: metodiky *in situ*

1. Plodovú vodu odstredte pri nízkej rýchlosťi, aby sa koncentrovali bunky.
2. Bunkovú peletu resuspendujte v malom objeme plodovej vody pacientky. Napríklad aspirujte supernatant 10 ml odstredenej plodovej vody na 0,5 ml nad bunkovú peletu a resuspendujte. Pridajte dostačné množstvo CHANG Medium *In Situ* do koncentrovanej bunkovej suspenzie, aby sa vytvoril konečný platóvací objem 0,5 ml na každú kŕstičku (celkom 4 kŕstice sklička) alebo 2 ml na každú fláštičku.
3. Nerušené kultúry inkubujte pri teplote 37 °C v atmosfére 5 % – 8 % CO₂.
4. Druhý deň zalejte kultúry pridaním 2 ml CHANG Medium *In Situ*.
5. Po 4 až 5 dňoch skontrolujte rast na kultúrach. Kultúry treba prizviť, keď sa spozoruje rast. Kultúry prizvite odstránením všetkého supernatantu kultúry a pridaním 2 ml čerstvého CHANG Medium *In Situ*. Potom sa odporúča kultúry prizviť každé 2 dni.
6. Rast na kultúrach skontrolujte okolo 5 dní a vykonajte zber, keď spozorujete dostačné kolónie.
7. Najlepšie výsledky sa dosiahnu, keď sú kultúry prizviené CHANG Medium *In Situ* deň pred zberom.

Použitie CHANG Medium *In Situ* na rast pasážovaných buniek plodovej vody:

Na pasážovanie buniek ošetríte kultúry trypsinom (alebo pronázou atď.) ako obvykle, keď sa bunky pestujú v konvenčnom médiu. Ošetroenie pronázou vásak treba pozorne sledovať. Bunky plodovej vody vystelované na CHANG Medium *In Situ* sú zvyčajne citlivejšie na ošetroenie pronázou, než bunky plodovej vody vystelované v konvenčnom médiu. Preto môže byť potrebné upraviť váš protokol a vziať to do úvahy.

Poznámka: V CHANG Medium *In Situ* sa bežne tvoria kŕstiky oxalátu vápenatého. Neprekážalo sa, že by prítomnosť týchto kŕstíkov mala dopad na výkon tohto produktu.

UCHOVÁVANIE A STABILITA

CHANG Medium *In Situ* uchovávajte zmrázene pri teplote -10 °C. Nepoužité CHANG Medium *In Situ* možno znova zmráziť a uchovávať pri teplote 2 °C až 8 °C.

Chráňte pred fluorescenčným svetlom.

Špecifický dátum expiracie nájdete na označení fláše. CHANG Medium *In Situ* možno opakovane zmrázit maximálne 2-krát a uchovávať rozmrázene pri teplote 2 °C až 8 °C 14 dní bez ovplyvnenia jeho funkcie. Uchovávanie dlhšie než 14 dní sa neodporúča.

BEZPEČNOSTNÉ OPATRENIA A VAROVANIA

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

Nepoužívajte žiadnu flášu, ktorej sterilný obal bol narušený.

CHANG Medium *In Situ* nepoužívajte po dátume expiracie uvedenom na označení.

БЪЛГАРСКИ

ПОКАЗАНИЯ ЗА УПОТРЕБА

CHANG Medium *In Situ* може да се използва за следните приложения:

1. пръвична култура на клетки от амниотична течност,
2. растящи пасажни клетки от амниотична течност,
3. твърда амнионна тъкан от проба на хорионни въси.

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

ОПИСАНИЕ НА ИЗДЕЛИЕТО

CHANG Medium *In Situ* е разработена за първично култивиране на клетки от човешка амниотична течност за използване при карийопизиране и други пренатални генетични тестове. Тази формула е оптимизирана за методология *in situ*.

КОМПОНЕНТИ

Аминокиселини

Соли и иони

Натривиев хлорид

Калиев хлорид

Натривиев фосфат

Калиев фосфат

Калиев хлорид

Магнезиев сулфат

Холин хлорид

Магнезиев хлорид

Натривиев селенит

Меден сулфат

Железен сулфат

Цинков сулфат

Протеини, хормони и растежни фактори

Фетален говедски serum

Говедски serum на новородено

Фibroblasten rastежен фактор (FGF)

Трансферин

Валин

Буфер

Прогестерон

Тестостерон

В-естрадиол

Хидрокортизон

Нуклеинови киселини

Цитидин

Дезоксиаденозин

Дезоксицитидин

Гуанозин

Тимидин

Уридин

Аденозин

Хипоксантин

Антиоксидант

Тиокотова киселина

Други

Етилов алкохол

Путресцин

КОНТРОЛ НА КАЧЕСТВОТО

СТЕРИЛНОСТ

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

ПОДГОТОВКА ЗА УПОТРЕБА

1. Размразете CHANG Medium *In Situ* бързо, като разлачвате с кръгови движения бутилката във водна баня с температура 37 °C.
2. По желание могат да бъдат добавени антибиотици.

АЛИКВОТОРИРАНЕ НА CHANG MEDIUM *In Situ*

1. Размразете CHANG Medium *In Situ* съгласно инструкциите.
2. Разпределете асептично в аликовитни части с подходящ обем и замразете отново.

3. Размразете аликовитните части във водна баня с температура 37 °C, когато е необходимо да се използват.

УКАЗАНИЯ ЗА УПОТРЕБА

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

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

Използване на CHANG Medium *In Situ* за първични култури: методология *in situ*

1. Центрификуйте амниотична течност при ниска скорост, за да концентрирате клетките.
2. Ресуспендирайте пелетата на клетки в малък обем амниотична течност от самия пациент. Например аспирите супернатанта на 10 ml центрификурана амниотична течност до 0,5 ml над пелетата от клетки и ресуспендирайте. Добавете достатъчно CHANG Medium *In Situ* към концентрираната супензия от клетки, за да остане окончателен обем за нанасяне от 0,5 ml на покривно стъкло (общо 4 покривни стъклка), или 2 ml на слайд-флакон.
3. Инкубрайте културите в покой при 37 °C, 5% – 8% CO₂ атмосфера.
4. В ден 2 залейте културите, като добавите 2 ml CHANG Medium *In Situ*.
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 *In Situ*. 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 *In Situ* в деня пред събирането.

Използване на CHANG Medium *In Situ* 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 *In Situ*, 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: Кристали калциев оксалат често се формират в CHANG Medium *In Situ*. Няма данни налични на тези кристали да причиняват неблагоприятен ефект върху функционалността на продукта.

СЪХРАНЕНИЕ И СТАБИЛНОСТ

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

Пазете от флуоресцентна светлина.

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

ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ И ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

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

Не използвайте бутилка, чиято стерилна опаковка е нарушена.

Не използвайте CHANG Medium *In Situ* след изтичане на срока на годност, посочен на етикета.

INDIKACIJE ZA UPORABO

Medij CHANG Medium *In Situ* se lahko uporablja za naslednje aplikacije:

1. primarna kultura celic amnijske tekočine,
2. gojene pasažirane celice amnijske tekočine,
3. trdno amnijsko tkivo iz vzorcev horionskih resic.

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

OPIS PRIPOMOČKA

Medij CHANG Medium *In Situ* je razvit za primarno kulturo humanih celic amnijske tekočine za uporabo pri določanju kariotipa in drugih antenatalnih genskih testih. Ta formula je optimizirana za metodologijo *in situ*.

KOMPONENTE

<u>Aminokisline</u>	<u>Soli in ioni</u>
Alanin	Natrijev klorid
Arginin	Kalijev klorid
Asparagin	Natrijev fosfat
Asparaginska kislina	Kalijev fosfat
Cistein	Kalcijev klorid
Cistin	Magnezijev sulfat
Glutaminska kislina	Holiniklorid
Glutamin	Magnezijev klorid
Glicin	Natrijev selenit
Histidin	Bakrov sulfat
Izolevcin	Železov sulfat
Levcin	Cinkov sulfat
Lizin	Beljakovine, hormoni in rastni faktorji
Metionin	Serum govejega zarodka
Fenilalanin	Serum novorojenega teleta
Prolin	Fibroblastni rastni faktor (FGF)
Serin	Transferin
Treonin	Inzulin
Triptofan	Progesteron
Tirozin	Testosteron
Valin	B-estradiol
Pufer	Hidrokortizон
Natrijev bikarbonat	Nukleinske kisline
Vitamini in elementi v sledovih	Citidin
Biotin	Deoksiadenozin
Riboflavin	Deoksicitidin
Askorbinska kislina	Deoksigvanozin
Folna kislina	Gvanozin
Nikotinska kislina	Timidin
Pantotsenska kislina	Uridin
Piridoksal	Adenozin
Piridoksin	Hipoksantin
Tiamin	Antioksidant
Vitamin B12	Tioktična kislina
Energijski substrati	Drugo
Glukoza	Etilni alkohol
Inozitol	Putrescin
Piruvat	
Indikator vrednosti pH	
Fenol rdeče	

ZAGOTAVLJANJE KAKOVOSTI**STERILNOST**

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

PRIPRAVA ZA UPORABO

1. Hitro odtalite medij CHANG Medium *In Situ* tako, da sukate steklenico v vodni kopeli s temperaturo 37 °C.
2. Po želji lahko dodate antibiotike.

ALIKVOTIRANJE MEDIJA CHANG MEDIUM *In Situ*

1. Medij CHANG Medium *In Situ* odtalte po navodilih.
2. Z aseptično tehniko ga porazdelite na alikvote primerne velikosti in ponovno zamrznite.
3. Ko želite alikvote uporabiti, jih odtalte v vodni kopeli pri 37 °C.

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 za 30 minut postavite v inkubator s 5–8 % CO₂ (pokrovček naj bo nekoliko priprt).

Končni pH mora biti 6,8–7,2.

Uporaba medija CHANG Medium *In Situ* 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 suspendirajte. V koncentrirano celično suspenzijo dodajte dovolj medija CHANG Medium *In Situ*, 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 5–8 % CO₂ pri 37 °C.
4. 2. dan kulture zaliže z 2 ml medija CHANG Medium *In Situ*.
5. Po 4 do 5 dneh preverite, ali kulture rastejo. Ko opazite rast, morate kulture nahraniti. Kulture nahranite tako, da odstranite več supernatant kulture in ga nadomestite z 2 ml svežega medija CHANG Medium *In Situ*. Priporočljivo je, da v nadaljevanju kulture nahranite vsaka 2 dni.
6. Na 5. dan ali po 5. dnevu preverite, koliko so kulture zrasle, in jih spravite, ko opazite dovolj kolonij.
7. Rezultat bo najboljši, če kulture nahranite z medijem CHANG Medium *In Situ* en dan, preden jih spravite.

Uporaba medija CHANG Medium *In Situ* za gojene pasažirane celice amnijske tekočine:

Če želite pasažirati 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 *In Situ*, 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: V mediju CHANG Medium *In Situ* pogosto nastanejo kristali kalcijevega oksalata, vendar prisotnost teh kristalov ni pokazala nobenih škodljivih učinkov na uporabnost izdelka.

SHRANJEVANJE IN STABILNOST

Medij CHANG Medium *In Situ* shranjuje zamrznjen pri -10 °C. Neuporabljen medij CHANG Medium *In Situ* lahko ponovno zamrznete ali shranite pri temperaturi od 2 do 8 °C.

Zaščitite pred fluorescenčno svetlobo.

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

PREVIDNOSTNI UKREPI IN OPORIZILA

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

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

Medija CHANG Medium *In Situ* ne smete uporabljati po izteku roka uporabnosti, navedenega na nalepki.