

FUJIFILM



Irvine Scientific

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*-diagnostik.

In vitro-diagnostiikkaan.

Lietošanai *in vitro* diagnostikā.

Uitsluitend voor *in vitro* diagnostisch gebruik.

Do diagnostic *in vitro*.

Pentru uz diagnostic *in vitro*.

För *in vitro*-diagnostik.

In vitro diagnostiliseks kasutamiseks.

In vitro diagnostikai alkalmazáshoz.

Skirta *in vitro* diagnostikai.

În *in vitro* diagnostik kullanim için.

Na diagnostické použití *in vitro*.

За *in vitro* диагностична употреба.

Za upotrebu u *in vitro* dijagnostici.

Ghal užu dijanjostiku *in vitro*.

Za diagnostično uporabo *in vitro*.

Glossary of Symbols*:

	Catalog Number
	Lot Number
	Sterilized using aseptic processing techniques (filtration)
	Expiration: Year - Month - Day
	Caution, consult accompanying documents
	Consult instructions for use
	Storage Temperature below -10°C
	Do not resterilize
	Do not use if package is damaged
	Manufacturer
	CE Mark
	Emergo Europe - Prinsessegracht 20 2514 AP The Hague The Netherlands

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

ENGLISH

INDICATION FOR USE

CHANG Medium *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 CO₂ incubators (cultures equilibrated with 5%-8% CO₂ 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

<u>Amino Acids</u>	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	<u>Proteins, Hormones, and Growth Factors</u>
Histidine	Fetal Bovine Serum
Isoleucine	Newborn Bovine Serum
Leucine	Fibroblast Growth Factor
Lysine	(FGF)
Methionine	Transferrin
Phenylalanine	Insulin
Proline	Progesterone
Serine	Testosterone
Threonine	B-Estradiol
Tryptophan	Hydrocortisone
Tyrosine	<u>Nucleic acids</u>
Valine	Cytidine
<u>Buffer</u>	Deoxyadenosine
Sodium Bicarbonate	Deoxycytidine
<u>Vitamins and trace elements</u>	Deoxyguanosine
Biotin	Guanosine
Riboflavin	Thymidine
Ascorbic Acid	Uridine
Folic Acid	Adenosine
Nicotinic Acid	Hypoxanthine
Pantothenic Acid	<u>Antioxidant</u>
Pyridoxal	Thioctic Acid
Pyridoxine	<u>Others</u>
Thiamine	Ethyl Alcohol
Vitamin B12	Putrescine
<u>Energy Substrates</u>	
Glucose	
Inositol	
Pyruvate	
<u>pH indicator</u>	
Phenol Red	
<u>Salts & Ions</u>	
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% CO₂ 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% CO₂ 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

© 2019 FUJIFILM Irvine Scientific, Inc. All rights reserved. The FUJIFILM Irvine Scientific logo and CHANG Medium are trademarks of FUJIFILM Irvine Scientific, Inc. in various jurisdictions. PN 40280 Rev.8

DEUTSCH

INDIKATIONEN

- 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 äquibrieren werden).

PRODUKT-BESCHREIBUNG

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
Alanin
Arginin
Asparagin
Asparaginsäure
Cystein
Cystin
Glutaminsäure
Glutamin
Glutidin
Histidin
Isoleucin
Leucin
Lysin
Methionin
Phenylalanin
Prolin
Serin
Threonin
Tyrosin
Valin
Valin
Zink
Zinkoxid
Zinksulfit
Proteine, Hormone und Wachstumsfaktoren
Fetales Kälberserum
Serum von neugeborenen Rindern
Fibroblastenwachstumsfaktor
Transferrin
Insulin
Progesteron
Testosteron
Bele-Estradiol
Hydrokortison
Nikotinsäure
Spurenelemente
Biotin
Riboflavin
Ascorbinsäure
Folsäure
Nikotinsäure
Nikotinolsäure
Pyridoxin
Thiamin
Vitamin B12
Energiesubstrate
Glukose
Inositol
Pyruvat
pH-Indikator
Phenolrot

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 Übersland von 10 ml des zentrifugierten Fruchtwassers zu 0,5 ml über dem Zellpellet abaugen und resuspendieren. Ausreichend CHANG Medium *In Situ* in die konzentrierte Zeiluspension geben, um das endgültige Überzuggvolumen 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* liegt gekühlt bei -10 °C liegen. Nicht verwendetes CHANG Medium *In Situ* kann erneut eingefroren oder bei 2 °C bis 8 °C gelagert werden. Keinem Fluoreszenzlicht aussetzen.

VORBEREITUNG

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

VORSICHTSMASSNAHMEN

UND WARHNHWEISE

Das Produkt ist für den Gebrauch durch Personal vorgesehen, das in Verfahren geschult ist, die den für das Produkt vorgesehene 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

Aminozacidi
Alanina
Arginina
Asparagina
Acido aspartico
Cisteina
Acido glutammico
Glutamina
Glicina
Isoleucina
Isoleucina
Leucina
Lisina
Metionina
Fenilalanina
Prolina
Serina
Treonina
Tirocino
Treonina
Valina
Valina
Zinco
Zincoossido
Zincoossido
Proteine, ormoni e fattori di crescita
Siero bovino fetale
Transferrina
Insulina
Progesterone
Testosterone
Biotina
Ibro-cortisone
Acidi nucleici
Cidina
Deossitadenosina
Deossitiosina
Diossietilene
Guanosina
Guanosina
Timidina
Uridina
Adenosina
Ipo-xantina
Antibiotici
Glucosio
Alcoli
Altri
Alcol etilico
Putrescina

Substrati energetici
Glucosio
Inosibolo
Pruvato

Vitamina B12
Energia

Altri
Etilalcol
Putescina

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

SUDDIVISIONE DI CHANG MEDIUM In Situ

1. Scongela CHANG Medium *In Situ* seguendo le istruzioni.
2. Distribuire in condizioni aseptiche in aliquote di dimensioni appropriate e ricongelare.
3. Scongela 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 (cob). 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. Risospendere il pellet cellulare in una piccola quantità di liquido amniotico della paziente. Ad esempio, aspirare il surmatante di 10 ml di liquido amniotico e risospendere. 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 surmatante 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.

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

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 fiasco. CHANG Medium *In Situ* può essere ricongelato non oltre due volte e conservato scongelato a 2-8 °C per 14 giorni, senza comprometterne le prestazioni. Si raccomanda di non conservare per oltre 14 giorni.

PRECAUZIONI E AVVERTENZE

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

Non usare fiasconi la cui confezione sterile sia stata compromessa.

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

PORTUGUÊS

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 âmnio obtido por colheita de amostras das vilosidades coriônicas.

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

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 noutros testes genéticos pré-natais. Esta fórmula foi otimizada para metodologias *in situ*.

COMPONENTES

<u>Aminoácidos</u>	<u>Sais e iões</u>
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 cúprico
Isoleucina	Sulfato ferroso
Leucina	Sulfato de zinco
Lisina	<u>Proteínas, hormonas</u>
Metionina	<u>e fatores de crescimento</u>
Fenilalanina	Soro bovino fetal
Prolina	Soro bovino neonatal
Serina	Fator de crescimento dos
Treonina	fibroblastos (FGF)
Triptofano	Transferrina
Tirosina	Insulina
Valina	Progesterona
<u>Tampão</u>	Testosterona
Bicarbonato de sódio	B-estradiol
<u>Vitaminas e oligoelementos</u>	Hidro cortisona
Biotina	<u>Ácidos nucleicos</u>
Riboflavina	Citidina
Ácido ascórbico	Desoxiadenosina
Ácido fólico	Desoxicitidina
Ácido nicotínico	Desoxiguanosina
Ácido pantoténico	Guanosina
Piridoxal	Timidina
Piridoxina	Uridina
Tiamina	Adenosina
Vitamina B12	Hipoxantina
<u>Substratos energéticos</u>	<u>Antioxidante</u>
Glucose	Ácido tióctico
Inositol	<u>Outros</u>
Piruvato	Álcool etílico
<u>Indicador de pH</u>	Putrescina
Vermelho de fenol	

GARANTIA DE QUALIDADE

ESTERILIDADE

O soro 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 de 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 assepticamente 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 amarelada). O ajuste do pH pode ser facilmente efetuado, colocando o meio numa incubadora com 5%–8% de CO₂ com a tampa ligeiramente desapertada durante cerca de 30 minutos.

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. Centrifugue o líquido amniótico a baixa velocidade para concentrar as células.
2. Ressuspenda o *pellet* de células num pequeno volume de líquido amniótico da própria doente. Por exemplo, aspire o sobrenadante de 10 ml de líquido amniótico centrifugado até 0,5 ml acima do *pellet* de células e ressuspenda. Adicione CHANG Medium *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 colónias 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

Conserva 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

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

- την πρωτογενή καλλιέργεια κυττάρων αρνιάκου υγρού
- την ανάπτυξη κυττάρων υποκαλλιέργειας αρνιάκου υγρού
- τη δειγματοληψία συμπαγούς αρνιάκου ιστού από χοριακές λαχνές.

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

ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΗΣ ΣΥΣΚΕΥΗΣ

Το CHANG Medium *In Situ* αναπτύχθηκε για την πρωτογενή καλλιέργεια ανώματων κυττάρων αρνιάκου υγρού για χρήση σε καρυοτυποποίηση και άλλες προγεννητικές γενετικές εξετάσεις. Αυτή η σύνθεση έχει βελτιστοποιηθεί για *In Situ* μεθόδολογίες.

ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ

Αιμοβίδα	Άλατα και ιόντα
Alanine	Χλωριούχο νάτριο
Arginine	Χλωριούχο κάλιο
Asparagine	Φωσφορικό νάτριο
Aspartic acid	Φωσφορικό κάλιο
Cysteine	Χλωριούχο ασβέστιο
Cytidine	Θεικό μαγνήσιο
Glutamine	Χλωριούχο γόλην
Glutamic acid	Χλωριούχο μαγνήσιο
Glycine	Σεληνικό νάτριο
Insulin	Θεικός γαλακός
Leucine	Θεικός σίδηρος
Lysine	Θεικός υδροβόριος
Methionine	Πρωτεϊνικές, σαρμικές και
Phenylalanine	αμινοξέδια παρασουλφίνες
Phenylthiourea	Ορός από έμβryo βοοειδών
Proline	Ορός από νεογνό βοοειδών
Serine	Αιθρικές παραφωσφάτες
Threonine	Ινσουλίνη
Transferrin	Τρανσεφερίνη
Tyrosine	Ινσουλίνη
Valine	Προστατερήνη
Vitamin B12	Τετραστερόνη
Vitamin B6	Διανιτρικό διάλυμα
Vitamin C	Διανιτρικό νάτριο
Vitamin E	Βιοταμίνη
Vitamin K	Βιταμίνες και χλωστοσταξεία
Zinc	Biotin
Zinc chloride	Riboflavin
Zinc sulfate	Ασκορβικό οξύ
Zinc selenate	Φυλλικό οξύ
Zinc nitrate	Νιτρικό οξύ
Zinc acetate	Πανθενικό οξύ
Zinc borate	Πυριδοξίνη
Zinc chloride	Θεαμίνη
Zinc gluconate	Biotinyl B12
Zinc lactate	Υποξανθίνη
Zinc malate	Εκζεματικά υποπροϊόντα
Zinc phosphate	Γλυκόζη
Zinc succinate	Θεοκτικό οξύ
Zinc tartrate	Άλλα
Zinc valerate	Αιθική αλκοόλη
Zinc citrate	Πουρεακίνη
Zinc fumarate	Ερυθρό της φαινόλης

Ο ορός που χρησιμοποιείται στην παραγωγή του CHANG Medium *In Situ* έχει ελεγχθεί για ιονική μόλυση σύμφωνα με το CFR Title 9 Part 113.53. Έχει επίσης εξεταστεί για μόλυση από μικροβίωση. Το CHANG Medium *In Situ* έχει αποστείρωθεί μέσω διήθησης με φίλτρο 0,1 μικρομέτρων. Δείγματα του CHANG Medium *In Situ* ελέγχονται για πιθανή βακτηριολογική μόλυση, ακολουθώντας το πρωτόκολλο δοκιμασίας στερεότητας που περιγράφεται στην πρόσουσα δοκιμασία στερεότητας κατά USP <71>.

ΠΡΟΕΤΙΜΟΙΑ ΧΡΗΣΗΣ

- Αποψύξτε το CHANG Medium *In Situ* κρήνορα, θερμοκλιζοντας 37 °C.
- Μπορείτε να προσθέσετε αντιβιοτικά αν το επιθυμείτε.

ΔΙΑΜΟΙΡΑΣΜΟΣ ΣΕ ΚΛΑΣΜΑΤΑ ΤΟΥ CHANG MEDIUM *In Situ*

- Αποψύξτε το CHANG Medium *In Situ* σύμφωνα με τις οδηγίες.
- Διανείμετε, υπό άσηπτες συνθήκες, σε πρακτικό μέγεθος κλάσματα και καταψύξτε τα ξανά.
- Αποψύξτε τα κλάσματα σε υδατόλουτρο 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 ελαφρώς κίτρινο χρώμα σολίστρου). Το pH μπορεί να ρυθμιστεί εύκολα, τοποθετώντας το μέσο σε επωαστήρα 5%-8% CO₂ με το πόμολο 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* μεθόδολογίες

- Φυγοκεντρίστε το αρνιάκο υγρό σε χαμηλή ταχύτητα, για συμπύκνωση των κυττάρων.
- Επαναλάβετε την εναιώριση του κυτταρικού συσσωματώματος σε μικρό όγκο αρνιάκου υγρού της ίδιας της σερβούς. Για παράδειγμα, αναρροφήστε το υπερκείμενο υγρό από τα 10 mL του φυγοκεντρίσιμου αρνιάκου υγρού, έως τα 0,5 mL πάνω από το κυτταρικό συσσωμάτωμα και επαναλάβετε την εναιώριση. Προσθέστε επαρκή ποσότητα CHANG Medium *In Situ* στο συμπυκνωμένο κυτταρικό εναιώρισμα για να παρασχεθεί τελικός όγκος επιτροπής 0,5 mL ανά κελυφίδα (συνολικά 4 κελυφίδες) ή 2 mL ανά μικροκαλλί.
- Επιψύξτε τις καλλιέργειες σε ατμόσφαιρα 5%-8% CO₂ στους 37 °C.
- Γεμίστε τις καλλιέργειες τη 2η ημέρα, προσθέτοντας 2 mL CHANG Medium *In Situ*.
- Μετά από 4 έως 5 ημέρες, οι καλλιέργειες θα πρέπει να ελέγχονται για την ανάπτυξή τους. Η παροχή θρεπτικού υλικού στις καλλιέργειες θα πρέπει να γίνεται από παρατήριση ανάπτυξης. Παρέχετε θρεπτικό υλικό στις καλλιέργειες αφαιρώντας ολοκληρωτή τον ποσότητα του υπερκείμενου υγρού στις καλλιέργειες και αντικαθιστώντας το με 2 mL φρέσκου CHANG Medium *In Situ*. Συνεχίστε τη παροχή θρεπτικού υλικού στις καλλιέργειες κάθε 2 ημέρες από αυτό το σημείο και έπειτα.
- Ελέγξτε την ανάπτυξη των καλλιεργιών την 5η ημέρα, ή μετά από αυτήν, και συλλέξτε όταν παρατηρηθούν επαρκείς αποικίες.
- Τα καλύτερα αποτελέσματα λαμβάνονται όταν οι καλλιέργειες τρέφονται με CHANG Medium *In Situ* την ημέρα πριν από τη συλλογή.

Χρήση του CHANG Medium *In Situ* για την ανάπτυξη κυττάρων υποκαλλιεργείων αρνιάκου υγρού: Για την υποκαλλιέργεια των κυττάρων, επεξεργαστείτε τις καλλιέργειες με θρυψίνη (ή προνάζη κ.λπ.) όπως θα κάνατε εάν τα κύτταρα καλλιεργούνταν σε συμβατικό μέσο. Ωστόσο, η επεξεργασία με τρυπασάδα θα πρέπει να παρακολουθείται προσεκτικά. Τα κύτταρα αρνιάκου υγρού που καλλιεργούνται στο CHANG Medium *In Situ* τελειώνω να είναι περισσότερο ευαίσθητα στην επεξεργασία με τρυπασάδα από τα κύτταρα που ανακαλύ υγρού που καλλιεργούνται σε συμβατικά μέσα. Μπορεί να χρειαστεί να τροποποιήσετε το πρωτόκολλό σας για να λάβετε υπόψη αυτή την πληροφορία.

Σημείωση: Στο CHANG Medium *In Situ* σχηματίζονται συχνά κρυστάλλοι οξάλικού ασβεστίου. Η παρουσία αυτών των κρυστάλλων δεν έχει αποδειχθεί ότι προκαλεί στο αδύνατο αρνητική επίδραση στην απόδοση του προϊόντος.

ΦΥΛΑΞΗ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ

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

Προστατέψτε το από φθορίζον φως.

Δείτε την επικεία της φυάλης για τη συγκεκριμένη περιγραφή της. Το CHANG Medium *In Situ* μπορεί να επανακαταψυχθεί το μέγιστο 2 φορές και να φυλαχθεί αποψυγμένο στους 2 °C έως 8 °C για 14 ημέρες, χωρίς να επηρεαστεί η λειτουργία του. Δεν ανατρίχεται η φυάλη για διάστημα μεγαλύτερο των 14 ημερών.

ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΕΙΣ

Η ασυσκευή αυτή προορίζεται για χρήση από προσωπικό που έχει εκπαιδευτεί σε διαδικασίες που περιλαμβάνουν τη συσκευασία.

Μη χρησιμοποιείτε καμία φυάλη στην οποία έχει παραβιαστεί η ακεραιότητα της αποστειρωμένου συσκευασίας.

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

ΣΕΪΣΤΙΝΑ

ΙΝΔΙΚΑΞΗ ΠΡΟ ΠΟΥΖΗΤΙ

CHANG Medium *In Situ* lze použít pro tyto aplikace:
1. primokultivace buněk z plodové vody
2. pěstování pasážovaných buněk z plodové vody
3. odběr vzorků pevné amniotické tkáně z choriových klků

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

POPIS PROSTŘEDKU

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

SLOŽKY

Amniokyseliny	Soli a ionty
Alanin	Chlorid sodný
Arginin	Chlorid draselný
Asparagin	Fosforečnan sodný
Kyselina asparagová	Fosforečnan draselný
Cystein	Chlorid vápenatý
Kyselina glutamová	Síran hořečnatý
Glycin	Chlorid hořečnatý
Glutamin	Seleničnan sodný
Histidin	Síran měďnatý
Isoleucin	Síran železnatý
Leucin	Síran zinečnatý
Lysin	Průhledný roztok
Methionin	Průhledný roztok
Fenylalanin	A růstové faktory
Prolin	Fetální bovinní sérum
Serin	Novorozenecké bovinní sérum
Threonin	Fibrin
Tryptofan	Hydroxybistový roztok
Tyrosin	faktor (FGF)
Valin	Transferrin
Valin	Inzulín
Hydrogenhlutinacní sodný	Progesteron
Vitamin A, slobová prkky	Testosteron
Biotin	B-estradiol
Riboflavin	Nukleové kyseliny
Kyselina askorbová	Cytidin
Kyselina listová	Deoxydenosin
Kyselina nikotinová	Deoxytyridin
Kyselina pantothenová	Deoxyguanosin
Pyridoxin	Guanosin
Thiamin	Thymidin
Vitamin B12	Uridin
Adenosin	Adenosin
Hypoxantin	Hypoxantin
Antioxidační	Glukóza
Kyselina thioctová	Inositol
Oseřalín	Pyruvát
Ethylalkohol	Indikátor pH
Puřecin	Fenolová červená

ZAJIŠTĚNÍ 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 mykoplasmy, CHANG Medium *In Situ* je sterilizováno filtrací o jemnosti 0,1 mikronů. Vzorky CHANG Medium *In Situ* jsou testovány na možnou bakteriální kontaminaci podle protokolu testování sterility popsaneého v aktuální verzi USP <71>.

PŘÍPRAVA K POUŽITÍ

- CHANG Medium *In Situ* rychle rozmrazte kroužením v lahvi ve vodní lázni o teplotě 37 °C.
- Podle potřeby lze přidat antibiotika.

ROZDĚLENÍ CHANG MEDIUM *In Situ*

- Podle pokynů rozmrazte CHANG Medium *In Situ*.
- Asepticky rozdělte na dily o příhodném objemu a znovu zmrazte.
- Až je budete připraveni použít, rozmrazte dily ve vodní lázni o teplotě 37 °C.

NÁVOD K POUŽITÍ

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

Konečné pH musí být 6,8–7,2.

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

- Odsředěním plodové vody při nízkých otáčkách koncentruje buňky.
- Resuspendujte buněčný pelet v malém objemu vlastní plodové vody pacientů. Například aspirujte supernatant z 10 ml odsředěné plodové vody, aby zbylo jen 0,5 ml nad buněčným peletem a resuspendujte. Ke koncentrování buněčné suspenze přidejte dostatečné množství CHANG Medium *In Situ*, abyste výsledně měli 0,5 ml na jedno krycí sklčko (celkem 4 krycí sklčka) nebo 2 ml na kultivační lahvičku.
- Inkubujte kultury nerušeně při teplotě 37°C v atmosféře s 5 % – 8 % CO₂.
- den kultury zaplavte přidáním 2 ml CHANG Medium *In Situ*.
- Po 4 až 5 dnech zkontrolujte růst kultur. Jakmile začnou růst, je třeba dodat živiny. Živiny doplňte tak, že odstraníte veškerý supernatant kultury a nahradíte ho 2 ml čerstvého CHANG Medium *In Situ*. Počé donorujeme kulturám doplněvat živiny každé 2 dny.
5. den nebo po něm kontrolujte růst kultur a když zjistíte dostatečné kolonie, proveďte sběr.
- Optimálních výsledků se dosahuje, pokud jsou kultury vyživeny médiem CHANG Medium *In Situ* den před sběrem.

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

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

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

UCHOVÁVÁNÍ A STABILITA

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

Chraňte před fluorescenčním světlem.

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

BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ A VAROVÁNÍ

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

Nepoužívejte žádnou lahev 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:

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

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

BESKRIVELSE AF PRODUKTET

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

KOMPONENTER

Aminosyrer	Salte og ioner
Alanin	Natriumklorid
Arginin	Kaliumklorid
Asparagin	Natriumfosfat
Asparaginsyre	Kaliumfosfat
Cystein	Kalciumklorid
Cystin	Magnesiumsulfat
Glutaminsyre	Koliniklorid
Glutamin	Magnesiumklorid
Glycin	Natriumselenit
Histidin	Cuprisulfat
Isoleucin	Jernsulfat
Leucin	Zinksulfat
Lysin	Proteiner, hormoner og vækstfaktorer
Methionin	Føtal bovint serum
Phenylalanin	Serum fra nyfødt kalv
Prolin	Fibroblastvækstfaktor (FGF)
Serin	Transferrin
Theonin	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
Pyridoxal	Adenosin
Pyridoxin	Hypoxanthin
Thiamin	Antioxidant
B12-vitamin	Thioctsyre
Energisubstrater	Andre
Glukose	Ætylealkohol
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 mykoplasmaplantaminering. CHANG Medium *in situ* er steriliseret vha. filtrering gennem et filter på 0,1 mikron. Prøver af CHANG Medium *in situ* testes for potentiel bakteriologisk kontaminering ifølge protokollen for sterilitetstestning som beskrevet i den aktuelle USP-sterilitetstest <71>.

KLARGØRING

1. Optå hurtigt CHANG Medium *in situ* ved at hvirvle flasken i et 37 °C vandbad.
2. Der kan eventuelt tilsættes antibiotika.

AFMÅLING AF CHANG MEDIUM *in situ*

1. Optå CHANG Medium *in situ* ifølge vejledningen.
2. Fordel mediet aseptisk i mængder af passende størrelse, og nedfrys dem igen.
3. Optå de opdeltte 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 % CO₂ med låget 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

1. Centrifuger amnionvæsken ved lav hastighed for at koncentrere cellerne.
2. Resuspender cellepelleten i en lille volumen af patientens egen amnionvæske. Aspirer f.eks. supernatanten fra 10 ml centrifugeret amnionvæske til 0,5 ml over cellepelleten, og resuspender. Tilsæt nok CHANG Medium *in situ* til den koncentrerede celluspension for at få en endelig udsåningsvolumen på 0,5 ml pr. dækglas (i alt 4 dækglas) eller 2 ml pr. ampul.
3. Inkuber kulturerne uforstyrret ved 37 °C i en atmosfære med 5-8 % CO₂.
4. Skyl kulturerne på dag 2 ved at tilsætte 2 ml CHANG Medium *in situ*.
5. 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.
6. Kontroller kulturernes vækst på/løller efter dag 5, og høst, når der observeres nok kolonier.
7. 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 dyrkes i konventionelt medium. Proteasebehandling skal imidlertid overvåges nøje. Amnionvæskeceller, der dyrkes i CHANG Medium *in situ* har en tendens til at være mere sensitive over for proteasebehandling end amnionvæskeceller, der dyrkes i konventionelt medium. Det kan være nødvendigt at ændre protokollen for at tage hensyn hertil.

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

OPBEVARING OG STABILITET

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

Beskyttes mod fluorescerende lys.

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

FORHOLDSREGLER OG ADVARSLER

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

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

Anvend ikke CHANG Medium *in situ* efter den udløbsdato, der er angivet på etiketten.

SUOMI

KÄYTTÖAIHE

CHANG Medium *In Situ* -elatusainetta voidaan käyttää seuraaviin tarkoituksiin:

1. lapsivesisolujen primaariviljely
2. siirrostettujen lapsivesisolujen kasvattaminen
3. kiinteä amnionkalvokudos istukkabiopsiasta.

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

VÄLINEEN KUVAUS

CHANG Medium *In Situ* kehitettiin ihmisen lapsivesisolujen primaariviljelyyn karyotyypin määrittämistä ja muita syntymää edeltäviä geneettisiä testejä varten. Koostumus on optimoitu in situ -menetelmiä varten.

AINESOSAT

Aminohapot	Suolat ja ionit
alanini	natriumkloridi
arginiini	kaliumkloridi
asparagiini	natriumfosfaatti
asparagiinihappo	kaliumfosfaatti
kysteiini	kalsiumkloridi
kystiini	magnesiumsulfaatti
glutamiinihappo	koliinikloridi
glutamiini	magnesiumkloridi
glysiini	natriumseleniitti
histidiini	kuparisulfaatti
isoleusiini	ferrosulfaatti
leusiini	sinkkisulfaatti
lysiini	Proteiinit, hormonit ja kasutekijät
metionini	naudan sikion seerumi
fenyylialaniini	vastasyntyneen naudan seerumi
proliini	fibroblastikasvutekijä (FGF)
seriini	transferrini
treoniini	insuliini
tryptofaani	progesteroni
tyrosiini	testosteroni
valiini	beetaestradioli
Puskuri	hydrokortisoni
natriumbikarbonaatti	Nukleiinihapot
Vitamiinit ja hivenainet	biotiini
riboflaviini	sytiidiini
askorbiinihappo	deoksiaadenosiini
foolihappo	deoksisytiidiini
nikotiinihappo	deoksiguanosiini
pantoteeni-happo	guanosiiini
pyridoksaali	tymidini
pyridoksiini	uridiini
tiamiini	adenosiini
B12-vitamiini	hypoksantiini
Energiasubstraatit	Antioxidantit
glukoosi	tioktiinihappo
inosioli	Muut
pyruvaatti	etanoli
pH-indikaattori	putreskiini
fenolipuna	

LAADUNVARMENNUS

STERIILYYS

CHANG Medium *In Situ* -tuotteen valmistuksessa käytettävä seerumi on testattu viruskontaminaation varalta CFR-säännöksen osan 9 pykälän 113.53 mukaisesti. Se on seulottu myös mykoplasmaplantaminaation varalta. CHANG Medium *In Situ* on steriloitu suodattamalla 0,1 mikronin suodattimen läpi. CHANG Medium *In Situ* -tuotteen näytteet testataan mahdollisen bakteerikontaminaation varalta noudattaen voimassaolevassa USP-steriiliyttestissä <71> kuvattua steriiliyttestausmenettelyä.

KÄYTÖN VALMISTELU

1. Sulata CHANG Medium *In Situ* -elatusaine nopeasti, 37 °C:n vesihautteessa pulloa pyörittäen.
2. Haluttaessa voidaan lisätä antibiootteja.

CHANG MEDIUM *In Situ* -ELATUSAINEEEN JAKAMINEN ERIIN

1. Sulata CHANG Medium *In Situ* ohjeiden mukaisesti.
2. Jaa aseptista menettelyä käyttäen kätevän kokoisin eriin ja pakasta uudelleen.
3. Kun elatusainetta tarvitaan käyttöön, sulata erät 37 °C:n vesihautteessa.

KÄYTTÖOHJEET

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

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

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

1. Konsentroi solut sentrifugoimalla lapsivettä pienellä nopeudella.
2. Suspendoi solusakka pieneen määrään potilaan omaa lapsivettä. Jos esimerkiksi 10 ml:n lapsivesinäyte sentrifugoidaan, aspiroi supernatanttia pois niin, että solusakan yläpuolelle jää 0,5 ml, ja suspendoi näyte uudelleen. Lisää riittävästi CHANG Medium *In Situ* -liuosta konsentroituu soluspension, niin että lopullinen maljaustilavuus on 0,5 ml / peitinlasi (yhteensä 4 peitinlasi) tai 2 ml / pieni viljelypullo.
3. Inkuboi viljelmiä ilman häiriöitä 37 °C:ssa 5–8-prosenttisesti CO₂-ilmakehässä.
4. Lisää viljelmiin 2 ml CHANG Medium *In Situ* -liuosta päivänä 2.
5. Viljelmien kasvu on tarkistettava 4–5 päivän kuluttua. Viljelmiä on ravittava, kun kasvu on havaittu. Ravitse viljelmiä poistamalla koko viljelmäsupernatanti ja korvaamalla se 2 ml:lla tuoretta CHANG Medium *In Situ* -liuosta. On suositeltavaa, että viljelmiä ravitaan tämän jälkeen 2 päivän välein.
6. Tarkista viljelmien kasvu päivänä 5 tai sen jälkeen. Kerää solut, kun havaitaan riittävästi pesäkkeitä.
7. Parhaat tulokset saadaan, kun viljelmiä ravitaan CHANG Medium *In Situ* -liuoksella keräämistä edeltävänä päivänä.

CHANG Medium *In Situ* -liuoksen käyttäminen siirrostettujen lapsivesisolujen kasvattamiseen: Siirrosta solut käsittelemällä viljelmät trypsiinillä (tai pronasailla jne.) kuten normaalistiikin, kun soluja kasvatetaan perinteisessä elatusaineessa. Proteaasikäsitteilyä on kuitenkin valvottava huolella. CHANG Medium *In Situ* -liuoksessa kasvatetut lapsivesisolut ovat herkempiä proteaasikäsitteilylle kuin perinteisessä elatusaineessa kasvatetut lapsivesisolut. Kasvatusten menetelmä on ehkä muutettava tämän huomioon ottamiseksi.

Huomautus: CHANG Medium *In Situ* -liuokseen muodostuu usein kalsiumoksaalaattikeitä. Näiden kiteiden esiintymisen ei ole osoitettu heikentävän tuotteen toimintakykyä millään tavoin.

SÄILYTTÄMINEN JA STABIILUIS

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

Suojaa loistevalaisimen valolta.

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

VAROTOIMET JA VAROITUKSET

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

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

Älä käytä CHANG Medium *In Situ* -liuosta etiketissä osoitetun viimeisen käyttöpäivän jälkeen.

LATVISKI

LIETOŠANAS INDIKĀCIJA

„CHANG Medium *In Situ*” (Čanga barotni *in situ*) var lietot tālāk norādītajos gadījumos.

- Augļa ūdens šūnu primārā kultivēšana.
- Pārēstu augļa ūdens šūnu audzēšana.
- Kompaktajiem amnija audiem, kas iegūti horiāļa bārkstīņu paraugā iekšmeklšanā.

Šī barotne ir paredzēta izmantošanai CO₂ inkubatoros (kultūras līdzsvars 5-8 % CO₂ vidē).

IERĪCES APRAKSTS

„CHANG Medium *In Situ*” izstrādāja cilvēka augļa ūdens šūnu primārāji kultivēšanai, lai veiktu kariotipu noteikšanas un citus antenatālos ģenētiskos testus. Šis sastāvs ir optimizēts izmantošanai ar *in situ* metodēm.

SASTĀVDAĻAS

Aminoskābes
Alanīns
Arginīns
Asparģīns
Asparģīnskābe
Cisteīns
Glutāmskābe
Glutamīns
Glutāmskābe
Glicīns
Histidīns
Izoleiķīns
Leicīns
Lizīns
Metionīns
Fenilalanīns
Prolīns
Serīns
Treonīns
Triptofāns
Taurīns
Valīns
Izoleiķīns
Bifērālskābe
Nātrija bļarotāls
Proteīns
Testosterons
Vitamīni un mikroelementi
Riboflāvīns
Biotīns
Askorbīnskābe
Foljātskābe
Nikotīnskābe
Panotēnskābe
Piridoksīns
Pridoksīns
Tiamīns
Vitamīns B12
Urdiņš
Enerģijas substrāti
Inozīols
Pruvāts
pH indikators
Fenolskābnāis

KVALITĀTES NODROŠINĀŠANA

„CHANG Medium *In Situ*” ražošana izmanto labus serums pārdaudžus, lai noteiktu vīrusu piesārņojumu, saskaņā ar nosauojumiem Federālo normatīvo aktu kodeksa (Code of Federal Regulation - CFR) 9. sadales 113.53. nodaļā. Tas pārdaudžs arī, lai noteiktū piesārņojumu ar mikoplāzmu „CHANG Medium *In Situ*” ir sterilizāta, filtrējot caur 0,1 mikrona filtru. „CHANG Medium *In Situ*” paraugi pārdaudžū, lai noteiktū iespējamo bakteriālo piesārņojumu abīlācī sterilitātes testēšanas problēmām, kas rakstīcīcī pārsteižā ASV Farmakopejas (USP) sterilitātes testā <1>.

SAGATAVOŠANA LIETOŠANAI

- An atkausējiet „CHANG Medium *In Situ*”, pudeli virpind 37 °C ūdens vannā.
- Ja vēlam, var pievienot antibiotikas.

„CHANG MEDIUM *In Situ*” DALĪŠANA

PIESARZĪBAS PASĀKUMI UN BRĪDĪNĀJUMI

Šī ierīce ir paredzēta procedūras, ar līdzās, kurām šī ierīce ir paredzēta, apmācība personāla lietošanai. Nelietojiet nevienu pudeli, kurai ir bojāts sterilitātes nosaujums.

„CHANG Medium *In Situ*” nelietot pēc derīguma termiņa, kas norādācīs etiķetē.

NEDERLANDS

INDICATIE VOOR GEBRUIK

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

- de primäre kweek van vruchtwatercellen
- het groeien van gepasseerde vruchtwatercellen
- vast ammoniëweefsel van een chorionvillusbiopsie.

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

BESCHRIJVING VAN HET HULPMIDDEL

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

COMPONENTEN

Aminozuren
Alanine
Arginine
Asparaginezuur
Cysteine
Glutaminezuur
Glutamine
Glycine
Histidine
Isoleucine
Leucine
Lysine
Methionine
Fenylalanine
Proline
Serine
Threonine
Tryptofaan
Taurine
Valine
Isoleucine
Progesteron
Vitaminen en sporelementen
Biotine
Riboflavine
Ascorbinezuur
Foliumzuur
Nicotinezuur
Panotienzuur
Pyridoxine
Thiamine
Vitamie B12
Energie substraten
Glucose
Inositol
Pyruvaat
pH-indicator
Fenolrood
Zouten en zouten
Natriumchloride
Kaliumchloride
Natriumfosfaat
Calciumchloride
Glucose
Cholinechloride
Magnesiumchloride
Natriumsekeniet
Cuprisulfaat
Lysine
Zinksulfaat
Eiwitten, hormonen en groeifactoren
Foetaal runder serum
Plasgeboren kalsserum
Droogtest groeifactor (FGF)
Trombine
Insuline
Progesteron
B-estradiol
Hydrocortison
Nucleïnezuuren
Cytidine
Deoxyadenosine
Deoxyuridine
Deoxyguanosine
Thymidine
Uridine
Adenosine
Hypoxanthine
Antioxidant
Alfa-Iponzuur
Overige
Ethylalcohol
Puferscine

KVALITEITSBORGING

STERILITEIT

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

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 zachte zijkimur moet hebben). De pH-waarde kan eenvoudig worden aangepast door het medium met een iets losgedraaide dop gedurende circa 30 minuten in een 5%-8% CO₂-incubator te zetten.

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

Gebruik van CHANG Medium *In Situ* voor primäre kweken: in situ-methode

- Centrifugeer het vruchtwater op lage snelheid om de cellen te concentreren.
- Resuspendeer de cellen in een kleine hoeveelheid eigen vruchtwater van de patient. Voorbeeld: Aspireer het supernatant van 10 gecentrifugeerd vruchtwater tot 0,5 ml boven de cepellet en resuspendeer. Voeg voldoende CHANG Medium *In Situ* aan de geconcentreerde celsuspensie toe tot een eindvolume van 0,5 ml per dekglasje (4 dekglasjes in totaal) of 2 ml per flesje, zie verken.
- Zet de kweken ongestoord in de incubator bij 37 °C en 5%-8% CO₂-atmosfeer.
- Beide 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 kwekesupernatant te verwijderen en te vervangen door 2 ml vers CHANG Medium *In Situ*. Aanbevelen 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 vóór het oogsten met CHANG Medium *In Situ* worden gevoed.

Gebruik van CHANG Medium *In Situ* voor het groeien van gepasseerde vruchtwatercellen:
Passer de cellen door de kweken met trypsine (of pronase etc.) te behandelen, zoals u dat normaal gesproken zou doen bij cellen die in een traditioneel medium gekweekt zijn. Proteasebehandeling dient echter zorgvuldig in de gaten te worden gehouden. Vruchtwatercellen die in CHANG Medium *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 medelijke 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.

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

VOORZORGSMAATREGELEN EN WAARSCHUWINGEN

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

Gebruik 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. litej tkanki owodniowej z biopsji kosmków kosmówki

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

OPIS WYROBU

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

SKŁADNIKI

<u>Aminokwasy</u>	<u>Sole i jony</u>
Alanina	Chlorek sodu
Arginina	Chlorek potasu
Asparagina	Fosforan sodu
Kwas asparaginowy	Fosforan potasu
Cysteina	Chlorek wapnia
Cystyna	Siarczan magnezu
Kwas glutaminowy	Chlorek choliny
Glutamina	Chlorek magnezu
Glicyna	Selenian sodu
Histydyna	Siarczan miedzi
Izoleucyna	Siarczan żelaza
Leucyna	Siarczan cynku
Lizyna	<u>Białka, hormony</u>
Metionina	<u>i czynniki wzrostu</u>
Fenylalanina	Plodowa surowica bydłęca
Prolina	Surowica nowonarodzonych
Seryna	ciąt
Treonina	Czynniki wzrostu
Tryptofan	fibroblastów (FGF)
Tyrozyna	Transferyna
Walina	Insulina
<u>Bufor</u>	Progesteron
Wodorowęglan sodu	Testosteron
<u>Witaminy i pierwiastki</u>	B-estradol
<u>śladowe</u>	Hydrokortyzon
Biotyna	<u>Kwasy nukleinowe</u>
Ryboflawina	Cytydina
Kwas askorbinowy	Deoksyadenozyna
Kwas foliowy	Deoksytydina
Kwas nikotynowy	Deoksyguanozyna
Kwas pantotenowy	Guanozyna
Pirydoksal	Tymidyna
Pirydoksyna	Urydina
Tiamina	Adenozyna
Witamina B12	Hipoksantyna
<u>Substraty energetyczne</u>	<u>Antyoksydant</u>
Glukoza	Kwas tiooktanowy
Inozytol	<u>Inne</u>
Pirogronian	Alkohol etylowy
<u>Wskaźnik pH</u>	Putrescyna
Czerwień fenolowa	

ZAPEWNIANIE JAKOŚCI

STERYLNOŚĆ

Surowicę używaną do produkcji pożywkę 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 mykoplazmą. Pożywkę CHANG Medium *In Situ* sterylizowano poprzez filtrację przez filtr o średnicy porów 0,1 mikrona. Próbkę pożywkę 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 rozmrozić pożywkę CHANG Medium *In Situ*, obracając butelkę w łaźni wodnej nastawionej na temperaturę 37°C.
2. W razie potrzeby można dodać antybiotyki.

ROZDZIELANIE POŻYWKI CHANG MEDIUM *In Situ* NA PORCJE

1. Rozmrozić 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, rozmrozić je w łaźni wodnej nastawionej na temperaturę 37°C.

INSTRUKCJA UŻYCIA

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

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

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

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

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

Aby wykonać pasaż komórek, podać hodowle działaniu trypsyny (lub pronazy itp.), w taki sam sposób, jak w przypadku komórek rosnących w pożywce standardowej. Jednakże należy ściśle monitorować komórki poddawane działaniu proteazy. Komórki płynu owodniowego rosnące w pożywce CHANG Medium *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.

PRZECHOWYWANIE I STABILNOŚĆ

Przechowywać pożywkę CHANG Medium *In Situ* zamrożoną w temperaturze -10°C. Nieużyta 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 rozmrożoną w temperaturze od 2°C do 8°C przez 14 dni bez negatywnego wpływu na jej działanie. Przechowywanie pożywkę przez okres dłuższy niż 14 dni nie jest zalecane.

ŚRODKI OSTROŻNOŚCI I OSTRZEŻENIA

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

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

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

ROMÂNĂ

INDICAȚIE DE UTILIZARE

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

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

Acest mediu a fost proiectat pentru utilizare în incubatoare cu CO₂ (culturi echilibrate cu o 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 metodologii 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 cobaltă
Glutamină	Clorură de magneziu
Glicină	Selenit de sodiu
Histidină	Sulfat de cupru
Izoleucină	Sulfat feros
Leucină	Sulfat de zinc
Lizina	Proteine, hormoni și factori de creștere
Fenilalanină	Ser fetal bovin
Prolină	Ser neonatal bovin
Serină	Factor de creștere
Treonină	a fibroblaștilor (FCF)
Triptofan	Transferrină
Tirozină	Insulină
Valină	Progesteron
Soluție lampson	Testosteron
Bicarbonat de sodiu	B-estradiol
Vitamine și oligoelemente	Hidrocortizon
Biotină	Azi, Lugdăci
Acid ascorbic	Citidină
Acid folic	Deoxiadenozină
Acid nicotinic	Deoxicitidină
Acid pantotenic	Deoxiguanozină
Piridoxal	Guanozină
Piridoxină	Timidină
Tiamină	Adenozină
Hipo-xantină	Hipo-xantină
Substatalul emergelice	Antioxidant
Glucoză	Acid toctic
Inozitol	Aliele
Privat	Alcool etilic
Indicator pH	Pufescenă
Reșu de fier	

ASIGURAREA CALITĂȚII

STERILITATE

Serul utilizat la producerea CHANG Medium *In Situ* a fost testat pentru a nu fi contaminat viral, în conformitate cu CFR Titlul 9 Partea 113.53. Acesta a fost de asemenea analizat pentru detectarea contaminării cu mycoplasma. CHANG Medium *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 bacteriologică după protocolul de testare a sterilității descris în testul de sterilitate actual prevăzut de Farmacopeea Americană <71>.

PREGĂTIREA PENTRU UTILIZARE

- Dezgheteți rapidi CHANG Medium *In Situ* prin aglitatea flaconului într-o baie de apă la 37°C.
- Dacă se dorește, se pot adăuga antibiotice.

REPARTIZAREA ÎN PĂRȚI ALICOTE

A CHANG MEDIUM In Situ

- Dezgheteți CHANG Medium *In Situ* în conformitate cu instrucțiunile.
- Distribuiți aseptic în părți alicote de mărime convenabilă și recongelati.
- Dezgheteți părțile alicote 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 mediul trebuie să aibă o culoare ușor galbuie-somon). pH-ul poate fi ajustat cu ușurință punând mediul într-un incubator de 5%-8% CO₂ cu capacul ușor slăbit timp de aproximativ 30 de minute.

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

Utilizarea CHANG Medium *In Situ* pentru culturi primare:

- Centrifugați lichidul amniotic la viteză redusă pentru metodologii in situ
- Resuspendați peleta cu celule într-un volum mic din propriul lichid amniotic al pacienței. 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 flaconaș.
- Incubați culturile fără a le agita la 37°C într-o atmosferă de CO₂ 5%-8%.
- Incundați culturile în ziua 2 prin adăugarea a 2 ml de CHANG Medium *In Situ*.
- După 4 sau 5 zile, culturile trebuie verificate pentru a se vedea dacă există creștere. Odată ce s-a observat creșterea, culturile trebuie hrănite. Hrăniți culturile prin îndepărtarea înregulii supernatant al culturii și înlocuirea cu 2 ml CHANG Medium *In Situ* proaspăt. Se recomandă hrănirea în continuare a culturilor la fiecare 2 zile.
- Controlați culturile pentru a vedea dacă există creștere în esau după ziua 5 și recoltați atunci când se observă suficiente colonii.
- Cele mai bune rezultate se obțin atunci când culturile sunt hrănite cu CHANG Medium *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.), așa cum ați proceda în mod normal atunci când celulele sunt crescute într-un mediu convențional. Cu toate acestea, tratamentul cu protează ar trebui monitorizat cu atenție. Celulele din lichidul amniotic crescute în CHANG Medium *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 vreun efect nedorit asupra performanței produsului.

DEPOZITARE ȘI STABILITATE

Dezpoziți 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.

Protejeți 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 dezghețat la o temperatură între 2°C și 8°C timp de 14 zile fără a-i afectată funcția. Nu se recomandă depozitarea mai mult de 14 zile.

PRECAUȚII ȘI AVERTISMENTE

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

Nu utilizați niciun flacon al căui ambalaj steri l a fost deteriorat.

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

SVENSKA

INDIKATIONER

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

- primärödling av celler i amniovätska
- odling av celler från amniovätska från passage
- fast amniovävnad från chorionvillbiopsi.

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

PRODUKTBESKRIVNING

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

KOMPONENTER

Aminosyror	pH-indikator
Alanin	Fenolrodt
Arginin	Salter och ioner
Asparagin	Natriumklorid
Asparaginsyra	Kaliumklorid
Cystein	Natriumostat
Cystin	Kaliumostat
Glutaminsyra	Kalciumklorid
Glutamin	Magnesiumsulat
Glycin	Kolinklorid
Histidin	Magnesiumklorid
Isoleucin	Natriumseleinit
Leucin	Kopparsulfat
Lysin	Ferrosulfat
Melatonin	Zinksulfat
Fenylalanin	Proteiner, hormoner, samt tillväxtfaktorer
Prolin	Fetat bovint serum
Serin	Serum från nyfödda kalvar
Treonin	Fibroblasttillväxtfaktor (FGF)
Tryptofan	Transferrin
Tyrosin	Insulin
Valin	Progesteron
Bufärf	Testosteron
Natriumbikarbonat	Vitamin och spårämnen
Biotin	Biotin
Askorbinsyra	Betastradiol
Folsyra	Hydrokortison
Nikotinsyra	Nukleinsyror
Pantotensyra	Cytidin
Pyridoxal	Deoxadenosin
Pyridoxin	Deoxityridin
Tiamin	Deoxiguanosin
Vitamin B12	Guanosin
Energisubstiat	Uridin
Glukos	Adenosin
Inositol	Hypoxantin
Pyruvat	Antioxidant
	Toktinsyra
	Oxigt
	Etylalkohol
	Pufescin

KVALITETSÄKRING

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 steriliserats med hjälp av filtrering genom ett 0,1 mikronfilter. Prover av CHANG Medium *In Situ* testas för eventuell bakteriell kontamination enligt det sterilitetsningsprotokoll som beskrivs i det aktuella USP-sterilitetstestet (USP Sterility test) <71>.

BEREDNING FÖR ANVÄNDNING

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

ALIKVOTERING AV CHANG MEDIUM In Situ

- Tina upp CHANG Medium *In Situ* enligt anvisningarna.
- Fördela mediet aseptiskt i allkvoter av lämplig storlek och frys ner dem på nytt.
- Tina upp allkvoterna i ett 37 °C vattenbad när de ska användas.

BRUKSANVISNING

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

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

Användning av CHANG Medium *In Situ* för primäkulturer i in situ-metoder

- Centrifugera amnioväskan på låg hastighet för att koncentrera cellerna.
- Resuspendera cellpelleten i en liten volym av patientens egen amniovätska. Aspirera t.ex. supernatanten från 10 ml centrifugerad amniovätska till 0,5 ml ovanför cellpelleten och resuspendera. Tillsätt tillräckligt med CHANG Medium *In Situ* till den koncentrerade celluspensionen för att möjliggöra en sluttig plativolym på 0,5 ml per läckglas (totalt 4 läckglas), eller 2 ml per flaska.
- Incubera kulturenna, utan att störa dem, vid 37 °C i 5–8 % CO₂-atmosfär.
- Födda kulturenna på dag 2 genom att tillsätta 2 ml CHANG Medium *In Situ*.
- Efter 4–5 dagar bör kulturenna kontrolleras med avseende på växt. Näring bör tillföras till kulturenna så snart växt har observerats. Tillför näring till kulturenna 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 kulturenna varannan dag.
- Kontrollera kulturenna med avseende på växt på efter dag 5 och skörda dem när tillräckligt många kolonier observeras.
- Bästa resultat erhålls när kulturenna tillförs näring med CHANG Medium *In Situ* dagen innan de skördas.

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

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

Anm: 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 nytt 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 upplinat vid 2–8 °C i 14 dagar utan att dess funktion påverkas. Förvaring under längre tid än 14 dagar rekommenderas ej.

FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER OCH VARNINGAR

Denna produkt är avsedd att användas av personal med utbildning i procedurer som omfattar den indicerade tillämpning 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.

EESTI KEEL

NÄIDUSTUS KASUTAMISEKS

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

- Lootevedeliku rakude primaarne kultuurimine
- Tõstatud lootevedeliku rakude kasvatamine
- Tahke lootekude koonioni hattuude proovist

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

SEADME KIRJELDUS

CHANG Medium *In Situ* töötati välja inimese lootevedeliku rakude primaarseteks kultuurimiseks karüotüüpimise ja muude säimeelsete geneetilistestide tegemise eesmärgil. Koostis on optimeeritud *in situ* meetoloogiateks.

OSAD

Amniohapped	Soolad ja ioonid
Alanin	Naatriumkloriid
Arginin	Kaaliumkloriid
Asparagin	Naatriumfosfaat
Asparagiinhape	Kaaliumfosfaat
Tsüsteiin	Kaltsiumkloriid
Tsütiin	Magneesiumsulfaat
Glutamiinhape	Kolinikloriid
Glutamiin	Magneesiumkloriid
Gütsiin	Naatriumseleenit
Histidiin	Vasksulfaat
Isoleutsiin	Raudsulfaat
Leutsiin	Tsinksulfaat
Lütsiin	Välgud, hormoonid
Meloniin	Ja kasvatiktorid
Fenüülaaliniin	Veisloote päriloju seenum
Protiin	Vastäundimud veise pärilou
Seriin	seenum
Troptoon	Fibroplastide kasvatiktor
Troptoon	(FGF)
Turosiin	Transferrin
Valiin	Insuliin
Progesteroon	Valiin
Naatriumvesinikkarbonaat	Progesteroon
Vitamiinid ja mikroelemendid	Testosteron
	B-Stradool
	Hüdrokortisoon
Biotiin	Nukleiinhapped
Askorbiin	Tsütidin
Rõblaviin	Deoksüadenosiin
Foolhape	Deoksütsütidin
Nikotiinhape	Deoksüguanosiin
Pantoteinhape	Guanosiin
Püridoksaal	Tümidin
Püridoksiin	Uridiin
Tiamiin	Adenosiin
Vitamiin B12	Hüposaniin
Vitamiin B1	Adenosin
Energia substraadid	Glükosid
Glükosid	Antioksüdant
Inositol	Lipoohape
Püruvaat	Muud
pH-Hindkitaor	Etiülalkohol
Fenoopüanone	Pütreestsin

KVALITEEDI TAGAMINE

STERILISUS

CHANG Medium *In Situ* tootimisel kasutatav seerum on testitud viiraste saaste suhtes CFR pk 9 oosa 113,53 järgi. Samuti on seda testitud mikroplasma suhtes. CHANG Medium *In Situ* on steriliseeritud filtreerimise teel läbi 0,1-mikronise filtri. Toote CHANG Medium *In Situ* proove on võimaliku bakterioloogilise saaste suhtes testitud steriilsuse katseprotokollil järgi, mida on kirjeldatud kehtivas USP steriilsustestsis <71>.

ETTEVALMISTUSED KASUTAMISEKS

- Sulatage CHANG Medium *In Situ* kiirelt, keerutatades puudelt 37 °C veevannis.
- Vajaduse korral võib lisada antibiootikume.

CHANG MEDIUM In Situ ALIKVOOTIMINE

- Sulatage CHANG Medium *In Situ* ühiste kohaselt.
- Jaotage asepliselt sobiva suurusega alikvootideks ja külmutage uuesti.
- Kui olete valmis kasutamiseks, sulatage alikvoovid 37 °C veevannis.

KASUTUSJUHEND

Kultuuride sootimiseks kasutatava sootme pH peab olema vahemikus 6,8–7,2 (si sõbde peab olema kerget kolikaosaranz), pH-d on lihtne kohandada, asetades sootme umbes 30 minutiks kergetlähit keeratud korgiga 5–8% CO₂ inkubaatorisse.

pH lõppnäit peab olema 6,8–7,2.

Toote CHANG Medium *In Situ* kasutamine primaarkultuuride korral: *in situ* meetoloogiad

- Tsentrifugeerige lootevedelikku väiksel kiirusel, et rakke kontsentreerida.
- Resuspendeerige rakupellet väheses patisiendi enda looteves. Näiteks võite asperreeda 10 ml tsentrifuugitud lootevedeliku supernatanti 0,5 ml võrra rakupelleti kohale ja resuspendeerida. Lisage kontsentreeritud rakususpensiooni pisavett toodet CHANG Medium *In Situ*, et igale stabiilsele oleks võimalik kanda 0,5 ml (kokku 4 slaidi), või 2 ml rakukasvatuspudele kohta.
- Inkubeerige kultuure segamatuult temperatuuril 37 °C 5–8% CO₂ keskkonnas.
2. päeval katke kultuurid üle 2 ml tootega CHANG Medium *In Situ*.
- 4–5 päeva järel tuleb kontrollida kultuuride kasvu. Kasvu tuvastamiseks tuleb kultuure toita. Toitke kultuure, eemaldades kogu kultuuri supernatandi ja asendades selle 2 ml värske CHANG Medium *In Situ* ga. Seejärel on soovitatav toita kultuure iga 2 päeva järel.

Kontrollige kultuuride kasvu 5. päeval või pärast seda ning koguge, kui tuvastate pisavat kokoonnäd.

7. Parimad tulemused saavutatakse kultuuride tootmisel tootega CHANG Medium *In Situ* üks päev enne kogumist.

Toote CHANG Medium *In Situ* kasutamine tõstatud lootevedeliku rakude kasvatamiseks:

Rakude tõstmiseks töödele kultuure trüpsiniiga (või pronaaSIGa vms) nagu tavapäraseil rakude kasvatamisel analüsis sootmes. Proteaasiga töölemist tuleb hoolikalt jälgida. CHANG Medium *In Situ*s töödeid lootevedeliku rakud kipuvad olema proteaasitöötluse suhtes tundlikumad kui tavapärase sootmes kasvatatud lootevedeliku rakud. Sellega arvestamiseks tuleb võib-ola muuta protokolle.

Märkus. Tootes CHANG Medium *In Situ* tekib sageli kaltsiumoksalaadi kristalle. Nende kristalide esinemine ei ole põhjustanud kahjulikku toimet toote jõudlusele.

SÄILITAMINE JA STABIILSUS

Säilitage toodet CHANG Medium *In Situ* külmutatult temperatuuril –10 °C. Kasutamata CHANG Medium *In Situ* võib uuesti külmutada või säilitada temperatuuril 2–8 °C. Käitke fluorentsisvalguse eest.

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

ETTEVAATUSABINÜUD HOIATUSED

See seade on ette nähtud kasutamiseks terвшouitöölajatele, kes on saanud koolituse selle seadme sihtlostarbellese kasutamise alal.

Ärge kasutage ühnikü pudelit, mille steriilne pakend on rikitud.

Ärge kasutage toodet CHANG Medium *In Situ* pärast toote etiketi näidatud aegumiskuupäeva.

MAGYAR

FELHASZNÁLÁSI JAVALLATOK

A CHANG Medium *In Situ* a következőkhez használható:

- az amniotikus folyadék sejtfeljének elsődleges tenyésztésére;
- az amniotikus folyadék passzát sejfeljének növesztésére;
- szilárd amniionszövet mintavételhez e sejtioronyokhoz.

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

TERMÉKISMERTÉTES

A CHANG Medium *In Situ* a human amniotikus folyadék sejfeljének elsődleges tenyésztésére lett kifejlesztve, karitotipus meghatározásához és más antenatális genetikai vizsgálatokhoz. Az összetételét *in situ* módszerekhez optimalizálták.

ÖSSZETEVŐK

Amiosavak	Sók és ionok
Alanin	Nárium-klorid
Arginin	Káium-klorid
Aszparagin	Náium-foszfát
Aszparagiinsav	Náium-biszfát
Cisztein	Kalcium-klorid
Csütiin	Magneium-szulfaat
Glutaminsav	Kolin-klorid
Glutamiin	Magneium-klorid
Glicin	Náium-sealenit
Hisztidin	Réz-szulfaat
Izoleucin	Ves-szulfaat
Leucin	Cink-szulfaat
Lütsin	Élethétkéi hormonok és mikroelektrolitok
Meloniin	Magnzi szervesaminaria
Fenülaaniin	Ujssült szarvasmaha
protiin	szarvasmaha
Serinin	Fibroblast növekedési faktor (fibroblast growth factor, FGF)
Triptofán	Transzferrin
Turosin	Inszulin
Valiin	Progesteron
Pütreer	B-ösztradiol
Nárium-karbonaát	Hüdrokortiszon
Vitamiinok és nyomelemek	Nükleinhapped
Biotiin	Tsütidin
Rõblaviin	Deoksüadenosiin
Askorbiin	Deoksütsütidin
Deoksüguanosin	Guanosiin
Nikotinsav	Tümidin
antioxiensav	Uridiin
piroxiin	Adenosin
Tiamiin	Hüposaniin
B12-vitamiin	Glükosid
Energiasubsztrátok	Inositol
Glükosid	Püruvaat
Antioxiidant	pH-Hindkitaor
Lipoohape	Fenoopüanone
Muud	
Etiülalkohol	
Fenovorós	

MINŐSÉGBIZTOSÍTÁS

STERILITÁS

A CHANG Medium *In Situ* előállításához használt szűrő „virusszenyvedőképes” a CFR 9. címének 113.53. része szerint vizsgálják. A médium mikroplazma-szenyvedőesét is megvizsgálják. A CHANG Medium *In Situ* sterilizálása 0,1 mikrosos szűrőn át történő szűrőssel történ. A CHANG Medium *In Situ* mintát a jelenlegi Amerikai Gyógyszerkönyvtárfilialis vizsgálatában <71> leírt sterilitásvizsgálati protokollt követve tesztelik a lehetséges bakteriológiai szennyeződésre.

ELŐKÉSZÍTÉS A FELHASZNÁLÁSRA

- Olvassza fel gyorsan a CHANG Medium *In Situ* médiumot az üveg 37 °C-os vízfürdőben történő forgatásával.
- Szükség esetén hozzáadhat antibiotikumot.

A CHANG MEDIUM In Situ SZÉTSZÁTÁSA

- Olvassza fel a CHANG Medium *In Situ* médiumot az utasítások szerint.
- Aszeptikusan ossza a kívánt méretű alikvotokra, és fagyassza le újra.
- Olvassza fel az alikvotokat 37 °C-os vízfürdőben, amikor a felhasználásukra készen áll.

Ne használjon olyan üveget, amelynek a sterilitásomagolása megseült.

Ne használja a CHANG Medium *In Situ* médiumot a címken felülemelti lejárati időn túl.

A végso pH-értéknek 6,8 és 7,2 közötti kell lennie.

A CHANG Medium *In Situ* felhasználása elsődleges tenyésztéshoz: *in situ* módszerek

- Centrifugálja az amniotikus folyadékot alacsony sebességgel a sejtek koncentráálásához.
- Szuszpendálja fel újra a sejpelletet a beteg saját amniotikus folyadékának kis mennyiségében. Peldül szíjja fel 10 ml centrifugált amniotikus folyadék felülözóját 0,5 ml-re a sejpellet fölé, és szuszpendálja fel újra. Adjon elegendő CHANG Medium *In Situ* médiumot a koncentrárt sejtuszpenziónhoz úgy, hogy a végso széleszési térfogat (fedőlemezeként 0,5 ml (összesen 4 fedőlemez) vagy flaskánként 2 ml legyen.
- Inkubálja a tenyésztéket zavartalanul 37 °C-on, 5–8%-os CO₂-atmoszférában.
- Arassza el a tenyésztéket a 2. napon 2 ml CHANG Medium *In Situ* hozzáadásával.
- 4–5 nap eltelével ellenőrizni kell a tenyészetek növekedését. A tenyészeteket a növekedés megállapítása után táplálni kell. A tenyészetek táplálásához távolítsa el a tenyészet összes felülözóját, és helyettesítse 2 ml friss CHANG Medium *In Situ* médiummal. Javassojuk, hogy a tenyészeteket ezután 2 naponta táplálja.
- Ellenőrizze a tenyészetek növekedését az 5. napon vagy azt követően, és amikor elegendő kolónia figyelhető meg, végezze el az összegyűjtést.
- Alegőbbrendűségükéhekkel ha tenyészeteket az összegyűjtés előtt napon CHANG Medium *In Situ* médiummal táplálja.

A CHANG Medium *In Situ* felhasználása az amniotikus folyadék passzált sejfeljének növesztéséhez.

A sejtek passzáálásához kezelje a tenyészeteket tripszinnel (vagy pronázál sib.), ahogyan ténne abban az esetben, ha a sejtek hagyományos médiumban növekednének. A proteázkezelést azonban gondosan ellenőrizni kell. Az amniotikus folyadék CHANG Medium *In Situ* médiumban növekvő sejtei általában érzékenyebbek a proteázkezelésre, mint a hagyományos médiumban növekvő sejtek. Ennek figyelembevételéhez szükséges lehet a protokoll módosítása.

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

TAROLÁS ÉS STABILITÁS

A CHANG Medium *In Situ* médiumot tárolja fagyaszta, –10 °C-on. A fel nem használt CHANG Medium *In Situ* újrafagyasztható, vagy 2 és 8 °C közötti hőmérsékleten tárolható.

Védje a fluoreszcens fénytől.

Az adott lejárati dátuma vonatkozásban lásd az üvegen található címkét. A CHANG Medium *In Situ* legfeljebb kétszer fagyasztható 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.

LİETUVIŲ K.

NAUDOJIMO INDIKACIJA

CHANG Medium *In Situ* galima naudoti šioms paskirtims:

- amnio no skysčio ištyliui pirminėi kultūrai;
- augmant perkeltas amnio no skysčio ląstelės;
- tvirtu amnio no audiniu, gautam paėmus chorioninių išaugų (gaurelių) mėginus.

Ši terpė buvo sukurta naudoti CO₂ inkubatoriuose ląstelių kultūros pusaug-vyros būsena pasiekta naudojant 5–8 % CO₂ atmosferą.

ITAISO APRĄŠYMAS

„CHANG Medium *In Situ*“ terpė buvo sukurta žmogaus amnio no skysčio ląstelių pirminėi kultūrai ir yra skiria naudoti atitektį kariotipavimą ir kitą prenatalinį genetinį tyrimą. Ši formulė buvo optimizuota *In situ* metodologijos.

SUDEDOMOSIOS DALYS

Amino rūgštys	Dusulės ir lipai
Alanin	Natrio chondras
Argininas	Kalcio chondras
Asparaginas	Natrio tostatas
Asparto rūgštis	Kalcio tostatas
Cisteinas	Kalcio chondras
Citinas	Magnio sulfatas
Glutamo rūgštis	Cholino chondras
Glutaminas	Magnio chondras
Glicinas	Natrio selenitas
Histidinas	Vario sulfatas
Izoleucinas	Geležies sulfatas
Leucinas	Cinko sulfatas
Lizinas	Baltymai, hormonai
Melioninas	Įaugimo faktorai
Fenilalaninas	Jaučio embriono kraujo serumas
Prolinas	senas
Serinas	Jaučio naujagimio kraujo serumas
Treoninas	Fibroblasto augimo faktorius (FGF)
Triptofanas	Vainas
Tirozinas	Transferinas
Vainas	Insulinas
Burėnės tlapalas	Natrio bikarbonatas
Progesteronas	Testosteronas
Vitaminai ir mikroelementai	Vitaminai B12
Riboflavinas	B-estradiolis
Riboflavinas	Hidroksizonas
Folio rūgštis	Nukleino rūgštys
Nikotino rūgštis	Deoksiedocinas
Pantotėninė rūgštis	Deoksidinas
Pridoksalis	Dezoksiguanozinas
Pridoksinas	Guanozinas
Vitaminas B12	Timidinas
Uridinas	Uridinas
Adenozinas	Adenozinas
Hipoksaninas	Hipoksaninas
Inozitolis	Glukozė
Pinuvatas	Antioksidantas
pH indikatorius	Lipo rūgštis
Fenolio rūgšties	Kila
	Etilo alkoholis
	Puresinas

KOKYBĖS UŽTIKRINIMAS

STERILUMAS

„CHANG Medium *In Situ*“ terpės gamyboje naudotas serumas buvo patikrintas dėl užteršimo virusais pagal CFR9 antraštinę dalį, 113.53 dalį, jis taip pat buvo patikrintas, ar nėra mikoplazmos užteršimo. „CHANG Medium *In Situ*“ terpė yra sterilizuota išfiltravus per 0,1 μ filtrą. „CHANG Medium *In Situ*“ terpės mėginiai yra ištrinami dėl galimo užteršimo bakterijomis, laikantis steriliumo tyrimo protokolo, kuris apibūdintas pagal šiuo metu patvirtintą Jungtinių Valstijų farmakopėjos steriliumo testą <7>.

PARUOŠIMAS NAUDOTI

- Aišlydykite „CHANG Medium *In Situ*“ terpę, greitai sukdamai buteliuką 37 °C temperatūros vandens vonelėje.
- Jeį pagelaujama, galima pridėti antibiotikų.

„CHANG MEDIUM In Situ“ TERPĖS

LĄŠINIMAS
1. Aišlydykite „CHANG Medium *In Situ*“ terpę pagal nurodymus

- Aseptiškai paskirsykite į patogaus naudoti dydžio alikotinis dais ir pakartotina užšaldykite.
- Kai būsute pasirengę naudoti, aišlydykite alikotines dalis 37 °C temperatūros vandens vonelėje.

NAUDOJIMO NURODYMAI

Kultūros maitinti naudojamos terpės rūgštingumas turi būti pH 6,8–7,2 (I. y. terpė turi būti šiek tiek gelvai išašinės spalvos). pH galima lengvai pakoreguoti terpę apie 30 minučių palaikant 5–8 % CO₂ inkubatoriuje su šiek tiek prasuku dangteliu.

Galutinis pH turi būti 6,8–7,2.

„CHANG Medium *In Situ*“ terpės naudojimas pirminėms ląstelių kultūroms: *in situ* metodologijos

- Centrifugokite amnio no skystį, nedideliu greičiu, kad koncentruotumėtė ląsteles.
- Resuspenduokite ląsteles granule nedideliame kiekyje pacientės amnio no skysčio. Pavyzdžiu, siurbkite 10 ml supematano iš centrifuguoto amnio no skysčio, palikdami 0,5 ml virš ląstelių granulės, ir resuspenduokite. Pakankamą kiekį „CHANG Medium *In Situ*“ terpės išašinkite į koncentruotą ląstelių suspensiją, kad būtų pasiektas galutinis ląkštėlės tūris –0,5 ml vienam dengiamajam stiklui (iš viso – 4 dengiamieji stikliai) arba 2 ml vienai kolbei.
- Kultūras netrukdomai inkubuokite 37 °C temperatūroje 5–8 % CO₂ atmosferoje.
- 2-ąją dieną apsemkite kultūras, pridėdami 2 ml „CHANG Medium *In Situ*“ terpės.
- Po 4–5 dienu kultūras reikia patikrinti, ar auga. Pastebėjus, kad kultūros auga, jas reikia maitinti. Maitinkite kultūras pašalindami visą kultūros paviršinį sluoksnį ir pakeldami terpę 12 ml šviežios „CHANG Medium *In Situ*“ terpės. Po to kultūras rekomenduojama maitinti kas 2 dienas.
- 5-ą dieną arba po 5 dienų patikrinkite kultūrų augimą ir aptikę pakankamai kolonijų ląsteles surinkite.
- Geriausią rezultatų pasiekima kultūras maitinant „CHANG Medium *In Situ*“ terpėje, likus dienai iki kultūrų ėmimo.

„CHANG Medium *In Situ*“ terpės naudojimas augmant perkeltas amnio no skysčio ląstelės:

Norėdami perkelti ląsteles, apdorokite kultūras tripsinu (arba pronasu ir pan.), kaip įprasta augmant ląsteles įprastinėje terpėje. Tačiau proteazės procedūrą reikia atidžiai stebėti. „CHANG Medium *In Situ*“ terpėje užaugintos amnio no skysčio ląstelės yra jautresnės proteazės procedūrai nei amnio no skysčio ląstelės, užaugintos įprastinėje terpėje. Galį pirrekti pakeisti protokolą, kad galėtumėtė ašišvelgti į šią terpę.

Pastaba. Dažnai „CHANG Medium *In Situ*“ terpėje susidaro kalcio oksalato kristalai. Nenustatyta, kad šių kristalų buvimas kaip nors pakenktų produkto funkcinėms savybėms.

LAIKYMAS IR STABILUMAS

Laikykite „CHANG Medium *In Situ*“ terpę užšaldytą –10 °C temperatūroje. Nenaudota „CHANG Medium *In Situ*“ terpę galima pakartotinai užšaldyti arba laikyti 2–8 °C temperatūroje.

Saugoti nuo fluorescencinių spindulių.

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

TÜRKÇE

KULLANIM ENDİKASYONU

CHANG Medium *In Situ* su yugulamalar için kullanılabilir:

- amniyotik sıvı hücrelerinin primer kültürü
- pasaj yapılmış amniyotik sıvı hücrelerini üreme inkubatorüne yerleştirerek kolayca ayarlanabilir.
- koryonik villus örneklemesinde solid amniyotik doku.

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

CHAHZ TANIMI

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

BİLEŞENLER

Amino Asitler	Tuzlar ve İyonlar
Alanin	Sodyum Klorür
Ajinin	Polasium Klorür
Asparajin	Sodyum Fosfat
Aspartik Asit	Polasium Fosfat
Sistein	Kalsiyum Klorür
Sistin	Magnezyum Sülfat
Glutamik Asit	Kolin Klorür
Glutamin	Magnezyum Klorür
Glisin	Sodyum Selenit
Histidin	Kurpik Sülfat
Izoleusin	Ferroz Sülfat
Lösin	Çinko Sülfat
Lizin	Proteinler, Hormonlar ve Büyüme Faktörleri
Metiyonin	Fetal Sığır Serumu
Fenilalanin	Yenidoğan Sığır Serumu
Prolin	Fibroblast Büyüme Faktörü (FGF)
Treonin	Transferin
Triptofan	İnsulin
Tirozin	Progesteron
Valin	Testosteron
Tampon	B-Estradiol
Sodyum Bikarbonat	Hidroksizon
Vitaminler ve eser elementler	Nükleotid asitler
Biyotin	Skorobin
Askorobik Asit	Deoksiedocinin
Folik Asit	Deoksistidin
Nikotik Asit	Deoksiguanozin
Pantoinik Asit	Guanozin
Pridoksial	Uridin
Pridoksin	Adenozin
Tiyamin	Hipoksanitin
B12 Vitamini	Antioksidan
Enerji Substratları	Tiyoptik Asit
Glukoz	Digerleri
Inositol	Etil Alkol
pH göstergesi	Puresin
Fenol Kırmızısı	

KALİTE GÜVENÇE

CHANG Medium *In Situ* üretiminde kullanılan serum CFR9 Başlık 9 Kısm 113.53 uyarınca viral kontaminasyon için test edilmiştir. Ayrıca mikoplazma kontaminasyonu için taranmıştır. CHANG Medium *In Situ* 0,1 mikron bir filtreden filtrasyon yoluyla sterilize edilmiştir. CHANG Medium *In Situ* örnekler mevcut USP Sterilitte testi <7> içinde tanımlanan sterilitte testi protokolü izlenerek olası bakteriyolojik kontaminasyon açısından test edilir.

KULLANIM HAZIRLIĞI

- CHANG Medium *In Situ* ürününü bir 37 °C su banyosunda işeyi çevirerek ızla çözün.
- İstenirse antibiyotikler eklenebilir.

CHANG MEDIUM In Situ ALIKOTLAMA

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

KULLANMA TALİMATI

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

Son pH 6,8 – 7,2 olmalıdır.

Primer Kültürler için CHANG Medium *In Situ* Kullanımı: *In situ* Metodolojiler

- Hücreleri konsantrite etmek için amniyotik sıvıyı düşük hızda santrifüleyin.
- Hücre pelletini hastanın kendi amniyotik sıvısının küçük bir miktarında tekrar süspansiyon haline getirin. Örneğin santrifülemiş 10 mL amniyotik sıvının süpematannı hücre pelletinin 0,5 mL üzerine kadar aspire edin ve tekrar süspansiyon haline getirin. Konsantrite hücre süspansiyonuna lamel başına 0,5 mL (toplam 4 lamel) veya flasket başına 2 mL olacak şekilde son paklamala hacmini mümkün kilmak üzere yeterli CHANG Medium *In Situ* ekleyin.
- Kültürleri eilemeden 37°C %5 - %8 CO₂ atmosferi altında inkübe edin.
- Kültürleri gün 2’de 2 mL CHANG Medium *In Situ* ekleyerek tamamen sıvıya örtün.
- Kültürlerin 4 - 5.günden sonra üreme açısından kontrol edilimesi gerekir. Kültürler üreme gözlemlikten sonra beslenmelidir. Kültürleri tüm kültür süpematannı alıp yerine 2 mL yeni CHANG Medium *In Situ* koyarak besleyin. Kültürlerin bundan sonra 2 günde bir kontrol edilmesi önerilir.
- Kültürleri 5. günde veya sonrasında üreme için kontrol edin ve yeterli koloni gözlenince toplayın.
- En iyi sonuçlar kültürlerin toplama öncesi günde CHANG Medium *In Situ* ile beslemesiyle alınır.

Pasajı Yapılmış Amniyotik Sıvı Hücreleri Büyütmek için CHANG Medium *In Situ* kullanımı:

Hücre pasajı yapmak için kültürleri, hücreler geleneksel vasatta üretildiğine normale yapacağınız gibi tripsin (veya Pronase vs.) muamelesi yapın. Ancak proteaz tedavisi dikkate izlenmelidir. CHANG Medium *In Situ* içinde büyütülen amniyotik sıvı hücreleri geleneksel vasatta büyütülenlere göre proteaz tedavisine daha duyarlı olma eğilimindedir. Protokolünüzü bunu hesaba alarak şekilde değiştirmek gerekebilir.

Not: CHANG Medium *In Situ* içinde sıklıkla Kalsiyum Oksalat kristalleri oluşur. Bu kristallerin varlığını ürün performansız üzerinde herhangi bir olumsuz etki olduğu gösterilmemiştir.

SAKLAMA VE STABİLİTE

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

Floresan ışktan koruyun.

Spesifik son kullanma tarihi için işşe etikette bakınız. CHANG Medium *In Situ* kullanımı öncesinde iştevi 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 amaçlanmş olduğu belirtilen uygulamanın dahi olduğu işlemler konusunda eğitilmiş personelle kullanılması amaçlanmıştır.

Steriil ambalejin olumsuz etkilenildiği herhangi bir işeyi kullanmayın.

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

SLOVENČINA

INDIKACIJA NA POUŽITJE

CHANG Medium *In Situ* možno použiti na naslednje aplikacije:

1. primarno kultivacijo buniek plodovej vode
2. rast pasajočih buniek plodovej vode
3. vzorčovanje pivneho zagoščenelega tkaniava z chorovnih kolov.

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

POPS ZARIADENIA

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

ZLOŽKY

Aminokyseliny

alanin
arginin
asparagin
kyselina asparagová
cystin
cystin
kyselina glutamová
glutamin
histidin
izoleucin
leucin
lyzín
metionin
fenylalanín
prolín
serín
treonín
tryptofán
tyrozín
valín
Puffer
hydrogenulfátny sodný
Vitamíny a stopové prvky
biotín
riboflavín
kyselina askorbová
kyselina listová
kyselina nikotínová
kyselina pantoténová
pridoxal
pyridoxín
tiamin
vitamín B12
Elektrolity substráty
glukóza
pivná
laktátový pH
fenolová červená

KONTROLA KVALITY

STERILITA

Serum použité pri výrobe CHANG Medium *In Situ* bolo testované na vírusovú kontamináciu podľa CFR, kapitoly 9, časti 113.53. Podstúpilo tiež skríning na mykoplasmatickú kontamináciu. CHANG Medium *In Situ* je sterilizované filtráciou 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>.

PRIPRAVA NA POUŽITIE

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

ALKVOTVORIENIE CHANG MEDIUM *In Situ*

1. CHANG Medium *In Situ* rozmrazte podľa pokynov.
2. Asepticky ho distribuujte do alkóvt' vhodnej veľkosti a znovu zmrazte.
3. Alkóvt' rozmrazte vo vodnom kúpeli pri teplote 37 °C, keď sú pripravené na použitie.

NAVOD NA POUŽITIE

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

Výsledný pH musí byť 6,8 – 7,2.

Použite CHANG Medium *In Situ* na primárne kultúry: metódky in situ

1. Plodovú vodu odstrňte pri nízkej rýchlosti, aby sa koncentrovali buniky.
2. Bunikovú peluť resuspendujte v malom objeme plodovej vody pacientu. Napríklad aspirujte supernatant 10 ml odstredenej plodovej vody na 0,5 ml nad bunikovú peluť a resuspendujte. Pridaťe dostatočne množstvo CHANG Medium *In Situ* do koncentrovanej bunikovoj suspenzie, aby sa vykvil konečný plátovací objem 0,5 ml na každé krycie skúmko (sejkom 4 krycie skúmky) alebo 2 ml na každú fľaštičku.
3. Nenúšťať kultúry inkubujte pri teplote 37 °C v atmosfére 5 % – 8% CO₂.
4. Druhý deň zalejte kultúry prídanim 2 ml CHANG Medium *In Situ*.
5. Po 4 až 5 dňoch skontrolujte rast na kultúrach. Kultúry treba prirviť, keď sa pozoruje rast. Kultúry prirviť odstránením všetkého supernatantu kultúry a prídanim 2 ml čerstvého CHANG Medium *In Situ*. Potom sa odporúča kultúry prirviť každé 2 dni.
6. Rast na kultúrach skontrolujte okolo 5. dňa a vykonajte zber, keď pozorujete dostatočné kolónie.
7. Najlepšie výsledky sa dosiahnu, keď sú kultúry prirviené CHANG Medium *In Situ* deň pred zberom.

Použite CHANG Medium *In Situ* na rast pasajočianých buniek plodovej vody:

Na pasajočovanie buniek očistite kultúry trypsinom (alebo pronázou aid.) ako obvykle, keď sa buniky pestujú v konvenčnom médiu. Ošetrovanie pronázou však treba pozorne sledovať. Buniky plodovej vody vypestované v CHANG Medium *In Situ* sú zvyčajne citlivejšie na ošetrovanie pronázou, než buniky plodovej vody vypestované v konvenčnom médiu. Preto môže byť potrebné upraviť vaš protokol a vziať to do úvahy.

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

UCHOVÁVANIE A STABILITA

CHANG Medium *In Situ* uchovávalte zmrazené pri teplote -10 °C. Nepoužite CHANG Medium *In Situ* možno znovu zmraziť a uchovávať pri teplote 2 °C až 8 °C.

Chráňte pred fluorescenčným svetlom.

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

BEZPEČNOSTNÉ OPATRENIA A VAROVANIA

Točo zariadenie je určené na použitie personálom vyškoleným na procedúry ktoré zahŕňajú aplikáciu na kionú je toto zariadenie určené.

Nepoužívajte žiadnu fľašu, ktorej sterilný obal bol narušený.

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

BULGARSKI

ПОКАЗАНИЯ ЗА УПОТРЕБА

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

1. първична култура на клетки от амниотична течност,
2. разсади пасажни клетки от амниотична течност,
3. въведа амнионна тъкан от пробя на хорниони всъи.

Тази среда е предназначена за използване в CO₂ инкубатори (култури, ексилбрирани 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 картиотимизирани и други пренатални генетични тестове. Тази формула е оптимизирана за методология in situ.

КОМПОНЕНТИ

Аминокиселини	Соли и йони
Алаин	Натриев хлорид
Аргинин	Калиев фосфат
Аспарагин	Натриев фосфат
Аспаргинова киселина	Калиев фосфат
Цистин	Калиев хлорид
Цистин	Магнезиев сулфат
Глутаминова киселина	Холин хлорид
Глутамин	Магнезиев хлорид
Глицин	Натриев селенит
Изовалянн	Хлорид
Лейцин	Железен сулфат
Лизин	Цинков сулфат
Метионин	Протеини, хормони
Фенилаланин	к-растваящи вещества
Серин	Фетален свръхдълг serum
Треонин	новоородено
Триптофан	филобластиен растежен
Тирозин	фактор (FGF)
Валин	Трансферин
Буфер	Инсулин
Натриев бикарбонат	Протестерон
Витамини и микроелементи	Тестостерон
Витамин В12	В-естрадиол
Глюкоза	Хидрокортизон
Албумин	Нуклеотидови киселини
Аспарагин	Цитидин
Аскорбинова киселина	Дезоксицитидин
Фолева киселина	Дезоксигуанозин
Никотинова киселина	Гуанозин
Пантотенова киселина	Тимидин
Пиридоксал	Уридин
Лизин	Уридин
Витамин В12	Аденозин
Еквивалентна обсервати	Албосантин
Инсулин	Глюкоза
Пируват	Триптофан
Д-Лимонат	Дури
Фенол, червен	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 протокола за тестване за стерилност, описан в актуалния тест за стерилност по USP <71>.

ПОДГОТОВКА ЗА УПОТРЕБА

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

АПИКВТВОТИРАНЕ НА CHANG MEDIUM

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

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

УКАЗАНИЯ ЗА УПОТРЕБА

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

Окислителното рН ниво трябва да е 6,8 – 7,2.

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

1. Центрофугируйте амниотичната течност при ниска скорост, за да концентрирате клетките.
2. Ресуспендирайте pelletата от клетки в малък обем амниотична течност от самия пациент. Например аспирирайте супернатанта на 10 ml центрофугирана амниотична течност до 0,5 ml над pelletata от клетки и ресуспендирайте. Добавете достатъчно CHANG Medium *In Situ* към концентрираната суспензия от клетки, за да остане окончателен обем за навсякъде от 0,5 ml на поръчно стъкло (общи 4 покрийвистъкала), или 2 ml на склад-флакон.
3. Инкубирайте културите в окоипри 37°C. 5% – 8% CO₂ атмосфера.
4. В ден 2 зalejте 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 хранят. Хранете културите, като отстранявате целия супернатант на културата и го заменяте с 2 ml прясна CHANG Medium *In Situ*. Препоръчва се културите да се хранят 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 хранят с CHANG Medium *In Situ* в деня преди събирането.

Използване на CHANG Medium *In Situ* за растеж на пасажни клетки от амниотична течност: За пасаж на клетките третирайте културите с трипсин (или проназам 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 калиев оксалат често се формират в CHANG Medium *In Situ*. Няма данни даличесто на тези кристали да причинява 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 бугилката за конкретния срок на годност. CHANG Medium *In Situ* може да бъде замразена отново максимум 2 пъти и съхранявана размразена при 2° C до 8° C за 14 дни, без това да засенне 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 бугилка, чиято стерилна опаковка е нарушена.

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

HRVATSKI

INDIKACIJE ZA UPOTREBU

Proizvod CHANG Medium *In Situ* može se upotrebljavati za sljedeće primjene:

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

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

OPIS PROIZVODA

CHANG Medium *In Situ* razvijen je za uzgoj primarne kulture stanica ljudske amnijske tekućine u svrhu kariotipizacije i drugih prenatalnih genetskih testiranja. Ova formula optimirana je za metode *in situ*.

KOMPONENTE

<u>Aminokiseline</u>	<u>Soli i ioni</u>
Alanin	Natrijev klorid
Arginin	Kalijev klorid
Asparagin	Natrijev fosfat
Aspartatna kiselina	Kalijev fosfat
Cistein	Kalcijev klorid
Cistin	Magnezijev sulfat
Glutamatna kiselina	Kolinijev klorid
Glutamin	Magnezijev klorid
Glicin	Natrijev selenit
Histidin	Bakrov sulfat
Izoleucin	Željezov sulfat
Leucin	Cinkov sulfat
Lizin	<u>Proteini, hormoni</u>
Metionin	<u>i čimbenici rasta</u>
Fenilalanin	Fetalni govedi serum
Prolin	Serum novorođene teladi
Serin	Fibroblastni čimbenik rasta (FGF)
Treonin	Transferin
Triptofan	Inzulin
Tirozin	Progesteron
Valin	Testosteron
<u>Pufer</u>	B-estradol
Natrijev hidrogenkarbonat	Hidrokortizon
<u>Vitamini i elementi</u>	<u>Nukleinske kiseline</u>
<u>u tragovima</u>	Citidin
Biotin	Deoksiadenozin
Riboflavin	Deoksicitidin
Askorbinska kiselina	Deoksiganozin
Folna kiselina	Gvanozin
Nikotinatna kiselina	Timidin
Pantotenska kiselina	Uridin
Piridoksal	Adenozin
Piridoksin	Hipoksantin
Tijamin	<u>Antioksidansi</u>
Vitamin B12	Lipoična kiselina
<u>Energetski supstrati</u>	<u>Ostalo</u>
Glukoza	Etilni alkohol
Inozitol	Putrescin
Piruvat	
<u>pH indikator</u>	
Fenol crveno	

OSIGURANJE KVALITETE

STERILNOST

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

PRIPREMA ZA UPOTREBU

1. Brzo odmrznuti proizvod CHANG Medium *In Situ* mučkajući bočicu u vodenj kupelji temperiranoj na 37 °C.
2. Po želji se mogu dodati antibiotici.

ALIKVOTIRANJE PROIZVODA CHANG MEDIUM *In Situ*

1. Odmrznuti proizvod CHANG Medium *In Situ* u skladu s uputama.
2. Aseptički raspodijeliti u alikvote odgovarajućih veličina i ponovno zamrznuti.
3. Odmrznuti alikvote u vodenj kupelji temperiranoj na 37 °C kada ih želite upotrijebiti.

UPUTE ZA UPOTREBU

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

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

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

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

Upotreba proizvoda CHANG Medium *In Situ* za uzgoj supkultiviranih stanica amnijske tekućine:

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

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

POHRANA I STABILNOST

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

Zaštiti od fluorescentnog svjetla.

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

MJERE OPREZA I UPOZORENJA

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

Ne upotrebljavati bocu na kojoj je sterilno pakiranje oštećeno.

Ne upotrebljavati proizvod CHANG Medium *In Situ* nakon isteka roka valjanosti navedenog na oznaci.

MALTI

INDIKAZZJONI GĦALL-UŻU

CHANG Medium *In Situ* jista' jiġi użat għall-applikazzjonijiet li ġejjin:

- il-kultura primarja ta' ċelloli tal-fluwidu amnijotiku
- it-tkabbir ta' ċelloli sottokultivati tal-fluwidu amnijotiku
- tessut amnijotiku solidu minn kampjuni ta' villi korjonici.

Dan il-midjum għe ddsinjat għall-użu f'inkubaturi tal-CO₂ (kulturi ekwilibriati b'atmosfera ta' 5%-8% CO₂).

DESKRIZZJONI TAL-APPARAT

CHANG Medium *In Situ* għe żviluppat għall-kultura primarja ta' ċelloli tal-fluwidu amnijotiku uman għall-użu fid-determinazzjoni tal-karjotip u testijiet ġenetiċi oħra ta' qabel it-twelid. Din il-formula għet ottimizzata għall-metodoloġiji In Situ.

KOMPONENTI

Acidi Amminici	Imluħa u Joni
Alanine	Sodium Chloride
Arginine	Potassium Chloride
Asparagine	Sodium Phosphate
Aspartic Acid	Potassium Phosphate
Cysteine	Calcium Chloride
Cystine	Magnesium Sulfate
Glutamic Acid	Sodium Chloride
Glutamine	Magnesium Chloride
Glycine	Sodium Selenite
Histidine	Cupric Sulfate
Isoleucine	Ferrous Sulfate
Leucine	Zinc Sulfate
Lysine	<u>Proteini, Ormoni u Fatturi ta' Tkabbir</u>
Methionine	Fetal Bovine Serum
Phenylalanine	Serum ta' Bovin tat-Twelid
Proline	Fattur ta' Tkabbir tal-Fibroblast (FGF)
Serine	Transferrin
Threonine	Insulina
Tryptophan	Progesterone
Tyrosine	Testosterone
Valine	B-Estradiol
<u>Bafer</u>	Hydrocortisone
Sodium Bicarbonate	<u>Acidi nukleici</u>
<u>Vitamiini u mikroelementi</u>	Cytidine
Biotin	Deoxyadenosine
Riboflavin	Folic Acid
Ascorbic Acid	Nicotinic Acid
Folic Acid	Pantothenic Acid
Nicotinic Acid	Pyridoxal
Pantothenic Acid	Pyridoxine
Pyridoxal	Thiamine
Pyridoxine	Uridine
Thiamine	Adenosine
Vitamina B12	Hypoxanthine
<u>Substrati tal-Energija</u>	<u>Antiossidant</u>
Glucose	Thioctic Acid
Inositol	<u>Oħrajn</u>
Pyruvate	Ethyl Alcohol
<u>Indikatur tal-pH</u>	Putrescine
Phenol Red	

ASSIGURAZZJONI TAL-KWALITÀ

STERILITÀ

Serum użat fil-produzzjoni ta' CHANG Medium *In Situ* għe ttestjat għall-kontaminazzjoni minn viruses skont CFR Titolu 9 Taqsima 113.53. Għe skrinjat ukoll għall-kontaminazzjoni minn mikoplażma. CHANG Medium *In Situ* jiġi sterilizzat permezz ta' filtrazzjoni minn ġo filtru ta' daqs 0.1 mikron. Kampjuni ta' CHANG Medium *In Situ* jiġu ttestjati għall-possibbiltà ta' kontaminazzjoni batterjoloġika skont il-protokoll ta' ttestjar għall-sterilità deskritt fit-test attwali tal-USP għall-Isterilità <71>.

PREPARAZZJONI GĦALL-UŻU

- Foll iċ-CHANG Medium *In Situ* malajr billi ddawwar il-flixxun f'banjarinja f'temperatura ta' 37°C.
- Jistgħu jizjeddu l-antibijotiċi jekk ikun mixtieq.

L-UŻU TA' ALIKWOTI TA' CHANG MEDIUM *In Situ*

- Foll CHANG Medium *In Situ* skont l-istruzzjonijiet.
- Qassam b'mod aseptiku f'alikwoti ta' daqs konvenjenti u erġa' ffriza.
- Foll l-alikwoti f'banjarinja f'temperatura ta' 37°C meta jkunu se jintużaw.

ISTRUZZJONIJET DWAR L-UŻU

Il-pH tal-midjum użat biex jitma' lill-kulturi jrid ikun bejn 6.8-7.2 (jiġifieri l-midjum irid ikun ta' kulur fit safrani-fis-salamun). Il-pH jista' jiġi aġġustat b'mod hafif billi tpoġġi l-midjum ġo inkubatur ta' 5%-8% CO₂ bit-tapp mahlu fit għal madwar 30 minuta.

Il-pH finali trid tkun bejn 6.8-7.2.

L-użu ta' CHANG Medium *In Situ* għall-Kulturi Primarji: Metodoloġiji in situ

- lċentrifuga l-fluwidu amnijotiku f'veloċità baxxa biex tikkonċentra ċ-ċelloli.
- Erġa' s'sospendi l-gerbuba taċ-ċelloli f'volum żgħir tal-fluwidu amnijotiku tal-pazjent stess. Pereżempju, aspira s-supernatante ta' 10 mL tal-fluwidu amnijotiku ċċentrifugat sa 0.5 mL 'l fuq mill-gerbuba taċ-ċelloli u erġa' s'sospendi. Żid ammont suffiċjenti ta' CHANG Medium *In Situ* lis-sospensjoni taċ-ċelloli kkonċentrati sabiex ikun hemm il-volum finali għall-plakkatura ta' 0.5 mL għal kull kopertina (total ta' 4 kopertini) jew 2 mL għal kull fiasketta.
- Inkuba l-kulturi mingħajr qaqlq f'temperatura ta' 37°C f'atmosfera ta' 5%-8% CO₂.
- Għarraġ il-kulturi fit-tieni (2) jum billi żżid 2 mL ta' CHANG Medium *In Situ*.
- Wara 4 jew 5 ijiem, għandu jiġi ċċekkjat kemm kibru l-kulturi. Il-kulturi għandhom jiġu misqija malli jiġi osservat li bdew jikbru. Isqj l-kulturi billi tneħhi s-supernatant kollu tal-kultura u tiddlu b'2 mL ta' CHANG Medium *In Situ* frisk. Huwa rakkomandat li mbagħad il-kulturi jiġu misqijin kull jumejn.
- lċċekkja kemm kibru l-kulturi fil-jew wara l-5 jum meta jiġi osservat numru suffiċjenti ta' kolonji.
- Jinkisbu l-aħjar riżultati meta l-kulturi jiġu misqijin b'CHANG Medium *In Situ* fil-jum ta' qabel il-ħsad.

L-użu ta' CHANG Medium *In Situ* għat-Tkabbir ta' Ċelloli Subkultivati tal-Fluwidu Amnijotiku: Għas-sottokultivazzjoni taċ-ċelloli, ittratta l-kulturi bit-trypsin (jew pronase, eċċ) bħalma jsir normalment meta ċ-ċelloli jitkabbiru f'midjum konvenzjonali. Madankollu, it-trattament bil-proteaze għandu jiġi mmonitorjat bir-reqqa. Ċelloli tal-fluwidu amnijotiku mkabtra f'CHANG Medium *In Situ* għandhom tendenza li jkunu iktar sensittivi għal-trattament bil-proteaze minn ċelloli tal-fluwidu amnijotiku mkabtra f'midjum konvenzjonali. Jista' jkun meħtieġ li l-protokoll tiegħe jiġi mmodifikat sabiex jittiehed akkont ta' dan.

Nota: Kristalli ta' calcium oxalate ta' spiss jiffirmaw f'CHANG Medium *In Situ*. Il-preżenza ta' dawn il-kristalli ma jidherx li tikkawza effett detrimental fuq il-prestazzjoni tal-prodott.

HAŻNA U STABILTÀ

Aħzen CHANG Medium *In Situ* ffrizat f'temperatura ta' -10°C. CHANG Medium *In Situ* li ma ntużax jista' jerġa' jiġi ffrizat jew mahżun f'temperatura ta' 2°C u 8°C.

Ipproteġi minn dawl fluworexcenti.

Ara t-tikketta fuq il-flixxun għad-data ta' skadenza speċifika. CHANG Medium *In Situ* jista' jerġa' jiġi ffrizat sa massimu ta' darbtejn (2) u mahżun mhux iffrizat f'temperatura ta' 2°C u 8°C għal 14-il jum mingħajr ma tiġi affettwata l-funzjoni tiegħu. Mhux irrakkomandat li jinħażen għal iktar minn 14-il jum.

PREKAWZJONIJET U TWISSIJET

Dan l-apparat huwa mahsub għall-użu minn personal imħarreg fi proċeduri li jinkludu l-applikazzjoni indikata li għaliha huwa mahsub l-apparat.

M'għandek tuża l-ebda flixxun li l-imballaġġ sterili tiegħu jkun ġie kompromess.

M'għandekx tuża CHANG Medium *In Situ* wara d-data ta' skadenza indikata fuq it-tikketta.

SLOVENŠČINA

INDIKACIJE ZA UPORABO

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

- primarna kultura celic amnijske tekočine,
- gojene pasažirane celice amnijske tekočine,
- 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 metodologije *in situ*.

KOMPONENTE

<u>Aminokisljine</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	Holinoklorid
Glutamin	Magnezijev klorid
Glicin	Natrijev selenit
Histidin	Bakrov sulfat
Izolevcin	Železov sulfat
Levcin	Cinkov sulfat
Lizin	<u>Beljakovine, hormoni in rastni faktorji</u>
Metonin	Serum govejega zarodka
Fenilalanin	Serum novorojenega teleta
Prolin	Fibroblastni rastni faktor (FGF)
Serin	Transferin
Treonin	Triptofan
Tirozin	Inzulin
<u>Pufer</u>	Valin
Natrijev bikarbonat	Progesteron
<u>Vitamiini in elementi v sledovih</u>	Testosteron
Biotin	B-estradol
Riboflavin	Hidrokorizon
Askorbinska kislina	<u>Nukleinske kisline</u>
Folna kislina	Citidin
Nikotinska kislina	Deoksiadenozin
Pantotenska kislina	Deoksicitidin
Piridoksal	Deoksigvanozin
Piridoksin	Gvanozin
Tiamin	Timidin
Vitamin B12	Uridin
<u>Energijski substrati</u>	Adenozin
Glukoza	Hipoksantin
Inozitol	<u>Antioskidant</u>
Piruvat	Tiotična kislina
<u>Indikator vrednosti pH</u>	Drugo
Fenol rdeċe	Etilni alkohol
	Putrescin

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 protokoloz za testiranje sterilnosti, opisanem v trenutni USP za testiranje sterilnosti <71>.

PRIPRAVA ZA UPORABO

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

ALIKVOTIRANJE MEDIJA CHANG MEDIUM *In Situ*

- Medij CHANG Medium *In Situ* odtalite po navodilih.
- Z aseptično tehniko ga porazdelite na alikvote primerne velikosti in ponovno zamrznite.
- Ko želite alikvote uporabiti, jih odtalite 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*

- Centrifugirajte amnijsko tekočino pri nizki hitrosti, da koncentrirate celice.
- Ponovno suspendirajte celično usedlino v majhnem volumnu bolnične lastne amnijske tekočine. Lahko na primer aspirirate supernatant 10 ml centrifugirane amnijske tekočine na raven 0,5 ml nad celično usedlino in ponovno suspendirate. V koncentrirano celično suspensijo 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.
- Nato se morajo kulture nemoteno inkubirati v atmosferi s 5–8 % CO₂ pri 37 °C.
- dan kulture zalijte z 2 ml medija CHANG Medium *In Situ*.
- Po 4 do 5 dneh preverite, ali kulture rastejo. Ko opazite rast, morate kulture nahraniti. Kulture nahranite tako, da odstranite ves supernatant kulture in ga nadomestite z 2 ml svežega medija CHANG Medium *In Situ*. Priporočljivo je, da v nadaljevanju kulture nahranite vsaka 2 dni.
- Na 5. dan ali po 5. dnevu preverite, koliko so kulture zrastle, in jih spravite, ko opazite dovolj kolonij.
- Rezultat bo najboljši, če kulture nahranite z medijem CHANG Medium *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 trpisinom (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 občutljivejšje 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* shranjujete 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 zamrzniti največ dvakrat in odtaljenega hraniti 14 dni pri temperaturi od 2 do 8 °C, ne da bi to vplivalo na njegovo delovanje. Shranjevanje za dlje kot 14 dni ni priporočljivo.

PREVIDNOSTNI UKREPI IN OPOZORILA

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