

## CHANG Medium C

### For Human Amniotic Fluid Cells

#### Catalog No.

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

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

**C100 (CHANG Medium Basal)**

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

**C101 (CHANG Medium Basal)**

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

For *in vitro* diagnostic use.

Zur *In-vitro*-Diagnostik.

Solo per uso diagnostico *in vitro*.

Para uso diagnóstico *in vitro*.

Pour diagnostics *in vitro*.

Para utilização em diagnóstico *in vitro*.

Για *in vitro* διαγνωστική χρήση.

Pro diagnostické použití *in vitro*.

Til *in vitro*-diagnostik.

*In vitro*-diagnostikaan.

Lietošanai *in vitro* diagnostikā.

Uitsluitend voor *in vitro* diagnostisch gebruik.

Do diagnostyki *in vitro*.

Pentru uz diagnostik *in vitro*.

För *in vitro*-diagnostik.

*In vitro* diagnostiseks kasutamiseks.

*In vitro* diagnostikai alkalmazáshoz.

Skirta *in vitro* diagnostikai.

*In vitro* diagnostik kullanım için.

Na diagnostické použitie *in vitro*.

Za *in vitro* diagnostična upotreba.

Za upotrebu u *in vitro* dijagnostici.

Ghal už dijanjostiku *in vitro*.

Za diagnostično uporabo *in vitro*.

Glossary of Symbols*:	
	Catalog Number
	Lot Number
	Sterilized using aseptic processing techniques (filtration)
	Expiration: Year - Month - Day
	Caution, consult accompanying documents
	Consult instructions for use
	Storage Temperature 2-8°C for T101-019, T101-059, C100, and C101
	Storage Temperature -10°C for C106 and C108
	Do Not Re-Sterilize
	Do not use if package is damaged
	Manufacturer
	CE Mark
Emergo Europe - Westervoortsedijk 60 6827 AT Arnhem The Netherlands	
<b>EC REP</b>	
*Symbol Reference - EN ISO 15223-1, Medical devices – Symbols to be used with medical device labels, labeling.	

#### ENGLISH

#### INDICATION FOR USE

CHANG Medium C may be used for the following applications:

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

THIS MEDIUM HAS BEEN DESIGNED FOR USE IN BOTH OPEN (CULTURES EQUILIBRATED WITH A 5% CO<sub>2</sub> ATMOSPHERE) AND CLOSED CULTURE SYSTEMS (CULTURES FLOODED WITH 5% CO<sub>2</sub> AND INCUBATED WITH THE CULTURE VESSELS TIGHTLY CAPPED).

#### DEVICE DESCRIPTION

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

#### COMPONENTS

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

#### QUALITY ASSURANCE

##### STERILITY

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

#### PREPARATION FOR USE

##### Lyophilized Supplement

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

bottle of CHANG Medium B Basal.

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

##### Frozen Supplement

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

#### ALIQUOTING CHANG MEDIUM C SUPPLEMENT

##### Lyophilized Supplement

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

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

##### Frozen Supplement

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

#### DIRECTIONS FOR USE

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

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

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

1. Centrifuge amniotic fluid at low speed to concentrate the cells.
2. Resuspend the cell pellet in a small volume of the patient's own amniotic fluid. For example, aspirate the supernate of 10 mL of spun amniotic fluid to 0.5 mL above the cell pellet and resuspend. Add sufficient CHANG Medium C to the concentrated cell suspension to allow for final plating volume of 0.5 mL per cover slip (total of 4 coverslips) or 2 mL per flaskette.
3. Incubate cultures undisturbed at 37°C 5% CO<sub>2</sub> atmosphere.
4. Flood cultures on day 2 by adding 2 mL of CHANG Medium C.
5. After 4 to 5 days, the cultures should be checked for growth. Cultures should be fed once growth has been observed. Feed cultures by removing all of the culture supernatant and replacing with 2 mL of fresh CHANG Medium C. It is recommended that cultures be fed every 2 days thereafter.
6. Check cultures for growth on/or after day 5, and harvest when sufficient colonies are observed.
7. Best results are obtained when the cultures are fed with CHANG Medium C the day before the harvest.

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

1. Centrifuge amniotic fluid at low speed to concentrate cells.
2. Resuspend the cell pellet in a small volume of the patient's own amniotic fluid. For example, aspirate the supernate of 10 mL of spun amniotic fluid to 1 mL above the cell pellet and resuspend. Add 4 mL of CHANG Medium C for a total volume of 5 mL per flask.
3. Incubate cultures undisturbed at 37°C 5% CO<sub>2</sub> atmosphere.
4. Check for growth on day 5. Change medium with fresh CHANG Medium C and harvest if sufficient cell growth is observed.
5. Check cultures for growth and completely change medium every other day thereafter until sufficient colonies are observed and are ready to harvest.
6. Best results are obtained when the cultures are fed with CHANG Medium C the day before the harvest.

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

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

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

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

#### STORAGE AND STABILITY

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

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

#### DO NOT FREEZE COMPLETE CHANG MEDIUM C.

#### PRECAUTIONS AND WARNINGS

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

Do not use CHANG Medium C components beyond the expiration date indicated on the individual labels.

**INDIKATIONEN**

CHANG Medium C kann für die folgenden Anwendungen verwendet werden:

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

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

**PRODUKTBESCHREIBUNG**

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

**INHALTSSTOFFE**

Salze und Ionen	Proteine,	Energiesubstrate
Natriumchlorid	Hormone und Glukose	
Natriumselenit	Wachstumsfaktoren Pyruvat	
Calciumchlorid	Fetale Inositol	
Cholinchlorid	Kälberserum (FBS) pH-Indikator	
Kaliumchlorid	Serum von Phenolrot	
Kaliumphosphat	neugeborenen Vitamine und Spurenelementen	
Magnesiumchlorid	Rindern Ascorbinsäure	
Magnesiumsulfat	Humanes Folsäure	
Natriumphosphat	Transferin Nikotinamid	
Eisensulfat	Fibroblastenwachstumsfaktor Riboflavin	
Kupfersulfat	Zinksulfat Insulin Thiamin	
Zinksulfat	Puffer Progesteron Pantothensäure	
Puffer	Natriumbicarbonat Testosteron Cobalamin	
Aminosäuren	Beta-Estradiol Pyridoxal	
Alanin	Hydrokortison Pyridoxin	
Arginin		
Asparagin		
Asparaginsäure	Wasser für Injektionszwecke (WFI)	
Cystein	Anderes Hypoxanthin	
Cystin	Glutaminsäure Biotin	
Glutaminsäure	Glutamin Putrescin	
Glutamin		
Glycin		
Histidin		
Isoleucin		
Leucin		
Lysin		
Methionin		
Phenylalanin		
Prolin		
Serin		
Threonin		
Tryptophan		
Tyrosin		
Valin		

**QUALITÄTSSICHERUNG****STERILITÄT**

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

**VORBEREITUNG****Lyophilisierte Ergänzung**

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

- Das Fläschchen für eine vollständige Lösung leicht schwenken. (HINWEIS: Das Fläschchen muss ggf. bei 37 °C für 5 bis 10 Minuten inkubiert werden, um die Ergänzung vollständig aufzulösen.)
- Den gesamten Inhalt des rekonstituierten CHANG Medium C Supplement mit aseptischen Techniken in die Flasche mit CHANG Medium B Basal übertragen.
- Die Kulturen ungestört bei 37 °C in einer 5%igen CO<sub>2</sub>-Atmosphäre inkubieren.
- Die Kulturen an Tag 2 überspülen, indem 2 ml CHANG Medium C zugegeben werden.
- Das gesamte CHANG Medium C durch Schwenken der Flasche gut mischen.
- 10,0 ml/l (200 mM) L-Glutamin hinzugeben. Bei Bedarf können Antibiotika hinzugefügt werden.

**Gefrorene Ergänzung**

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

**ALIQUOTIEREN DES CHANG MEDIUM C SUPPLEMENT****Lyophilisierte Ergänzung**

- Wenn nicht das ganze CHANG Medium C innerhalb von 10 Tagen verwendet werden kann, können mithilfe der folgenden Änderung des Verfahrens kleinere Mengen zusammengestellt werden:
- Die lyophilisierte Ergänzung CHANG Medium C rekonstituieren.
  - Mit aseptischen Techniken in handliche Aliquote verteilen und einfrieren.
  - Außerdem das CHANG Medium B Basal mit aseptischen Techniken in eine entsprechende Anzahl von Aliquoten verteilen.
  - Um ein vollständiges CHANG Medium C vorzubereiten, ein Aliquot des aufgetauten CHANG Medium C Supplement in ein Aliquot des CHANG Medium B Basal geben.
  - Gründlich mischen.

**Gefrorene Ergänzung**

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

**VERWENDUNG VON CHANG MEDIUM C FÜR WACHSENDEN PASSAGIERTEN****Fruchtwasserzellen:**

Um die Zellen zu passagieren, die Kulturen mit Trypsin (oder Pronase usw.) behandeln, so wie es üblich ist, wenn Zellen in einem konventionellen Medium kultiviert werden. Eine Behandlung mit Protease sollte allerdings sorgfältig überwacht werden. In CHANG Medium C kultivierte Fruchtwasserzellen neigen dazu, empfindlicher auf eine Protease-Behandlung zu reagieren als in konventionellem Medium kultivierte Fruchtwasserzellen. Das Protokoll muss ggf. geändert werden, um dies zu berücksichtigen.

**Hinweis:** Nach dem Auftauen kann sich in Chang Medium C Proteinniederschlag bilden. Es ist nicht bekannt, dass dieser Proteinniederschlag die Produktleistung beeinflusst.

**LAGERUNG UND STABILITÄT**

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

Keinen Fluoreszenzlicht aussetzen.

Die spezifischen Verfallsdaten auf den Etiketten der jeweiligen Komponentenflaschen beachten.

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

- Das Fruchtwasser bei geringer Geschwindigkeit zentrifugieren, um die Zellen zu konzentrieren.
- Das Zellpellet in einer kleinen Menge Fruchtwasser derselben Patientin resuspendieren. Beispielsweise den Überstand von 10 ml des zentrifugierten Fruchtwassers zu 0,5 ml über dem Zellpellet

absaugen und resuspendieren. Ausreichend CHANG Medium C in die konzentrierte Zellsuspension geben, um das endgültige Überzugsvolumen von 0,5 ml pro Deckglas (ingesamt 4 Deckgläser) oder 2 ml pro Fläschchen zu erreichen.

- Die Kulturen ungestört bei 37 °C in einer 5%igen CO<sub>2</sub>-Atmosphäre inkubieren.

- Die Kulturen am Tag 2 überspülen, indem 2 ml CHANG Medium C zugegeben werden.

- Das gesamte CHANG Medium C durch Schwenken der Flasche gut mischen.

- 10,0 ml/l (200 mM) L-Glutamin hinzugeben. Bei Bedarf können Antibiotika hinzugefügt werden.

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

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

- Das Fruchtwasser bei geringer Geschwindigkeit zentrifugieren, um Zellen zu konzentrieren.
- Das Zellpellet in einer kleinen Menge Fruchtwasser derselben Patientin resuspendieren. Beispielsweise den Überstand von 10 ml des zentrifugierten Fruchtwassers zu 1 ml über dem Zellpellet absaugen und resuspendieren. 4 ml CHANG Medium C für ein Gesamtvolumen von 5 ml in die Flasche geben.

- Die Kulturen ungestört bei 37 °C in einer 5%igen CO<sub>2</sub>-Atmosphäre inkubieren.

- An Tag 5 auf Wachstum prüfen. Das Medium durch frisches CHANG Medium C ersetzen und die Kulturen entnehmen, wenn ausreichend Zellwachstum festgestellt wird.

- Die Kulturen auf Wachstum prüfen und danach jeden zweiten Tag das Medium auswechseln, bis ausreichend Kolonien vorhanden sind und entnommen werden können.

- Die besten Ergebnisse werden erreicht, wenn die Kulturen am Tag vor der Entnahme mit CHANG Medium C genährt werden.

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

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

**VERWENDUNG VON CHANG MEDIUM C FÜR WACHSENDEN PASSAGIERTEN****Fruchtwasserzellen:**

Um die Zellen zu passagieren, die Kulturen mit Trypsin (oder Pronase usw.) behandeln, so wie es üblich ist, wenn Zellen in einem konventionellen Medium kultiviert werden. Eine Behandlung mit Protease sollte allerdings sorgfältig überwacht werden. In CHANG Medium C kultivierte Fruchtwasserzellen neigen dazu, empfindlicher auf eine Protease-Behandlung zu reagieren als in konventionellem Medium kultivierte Fruchtwasserzellen. Das Protokoll muss ggf. geändert werden, um dies zu berücksichtigen.

**Hinweis:** Nach dem Auftauen kann sich in Chang Medium C Proteinniederschlag bilden. Es ist nicht bekannt, dass dieser Proteinniederschlag die Produktleistung beeinflusst.

**LAGERUNG UND STABILITÄT**

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

Keinen Fluoreszenzlicht aussetzen.

Die spezifischen Verfallsdaten auf den Etiketten der jeweiligen Komponentenflaschen beachten.

Das Complete CHANG Medium C kann bei 2 °C bis 8 °C 10 Tage lang ohne Verwendung gelagert werden, ohne dass seine Funktion beeinträchtigt wird. Eine Lagerung für mehr als 10 Tage wird nicht empfohlen.

**DAS COMPLETE CHANG MEDIUM C NICHT EINFRIERN.**

**VORSICHTSMASSNAHMEN UND WARNHINWEISE**

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

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

**ITALIANO****INDICAZIONI PER L'USO**

CHANG Medium C può essere usato per le seguenti applicazioni:

- colture primarie di cellule di liquido amniotico;
- colture secondarie di cellule di liquido amniotico;
- colture di cellule di midollo osseo;
- tessuto amniotico solido da campionamento di villi corionici.

QUESTO TERRENO PUÒ ESSERE USATO SIA IN SISTEMI APERTI (COLTURE EQUILIBRATE IN ATMOSFERA CON IL 5 % DI CO<sub>2</sub>) CHE IN SISTEMI CHIUSI (COLTURE SOTTO FLUSSO CON IL 5 % DI CO<sub>2</sub> E INCUBATE IN SUPPORTI CHIUSI ERMETICAMENTE).

**DESCRIZIONE DEL DISPOSITIVO**

CHANG Medium C è stato sviluppato per colture primarie di cellule di liquido amniotico umano per la determinazione del cariotipo e altri test genetici prenatali. QUESTA FORMULA È STATA OTTIMIZZATA PER SISTEMI SIA APERTI CHE CHIUSI.

**COMPONENTI**

Salì e ioni	Proteine, ormoni e fattori di crescita	Indicatore di pH
Cloruro di sodio	Siero bovino fetale	Rosso fenolo
Selenito di sodio	Siero bovino fetale	Vitamina ed elementi in tracce
Cloruro di calcio	Siero bovino neonatale	Acido ascorbico
Cloruro di colina	Transferrina umana	Acido folico
Cloruro di potassio	Fattore di crescita dei fibroblasti	Nicotinamide
Fosfato di potassio	Colorante di magnesio	Riboflavina
Cloruro di magnesio	Solfato di magnesio	Tiamina
Solfato di magnesio	Prostaglandine	Acido pantotenico
Fosfato di sodio	Solfato di ferro	Cobalamina
Solfato di rame	Testosterone	Pirimidossale
Solfato di zinco	Beta estradiolo	Pirimidossina
Tampone	Idrocortisone	Pirimidossina
Bicarbonato di sodio	Acqua	
Aminoacidi	Qualità WFI (acqua per iniezioni)	
Alanina	Altro	
Arginina	Ipoxantina	
Asparagina	Biotina	
Acido aspartico	Putrescina	
Cisteina	Alcol etilico	
Cistina	Antiossidante	
Acido glutammico	Acido tiocetico	
Glutammmina	Glutamina	
Acidi nucleici	Deossiadenosina	
Glicina	Deossicitidina	
Istidina	Deossiguanosina	
Isoleucina	Adenosina	
Leucina	Citidina	
Lisina	Guanosina	
Metionina	Timidina	
Fenilalanina	Uridina	
Prolina	Substrati energetici	
Serina	Glucosio	
Treonina	Piruvato	
Triptofano	Inositol	
Tirosina		
Valina		

Garanzia di qualità	Sterilità
Il siero usato per la produzione di CHANG Medium C supplemento è stato testato per escludere contaminazione virale seguendo la procedura CFR Titolo 9 Parte 113.53. È stato anche testato per determinare eventuali contaminazioni da micoplasma.	LE COLTURE DEVE ESSERE COMPRESO TRA 6,8 E 7,2 (cioè, il terreno deve essere di colore salmone leggermente tendente al giallo). Il pH può essere facilmente regolato ponendo il terreno in un incubatore con CO <sub>2</sub> al 5-8% con il tappo leggermente svitato.
CHANG Medium B Basal e CHANG Medium C supplemento sono stati sterilizzati per filtrazione mediante filtro da 0,1 micron. Campioni rappresentativi di CHANG Medium B Basal e CHANG Medium C supplemento sono stati testati per escludere eventuale contaminazione batterica seguendo il protocollo delle prove di sterilità descritto nel corrente test di sterilità USP <71>.	Il pH finale deve essere compreso fra 6,8 e 7,2.
Per ulteriori dettagli sull'uso di questi prodotti, il laboratorio deve consultare le procedure e i protocolli specificamente sviluppati e ottimizzati per il proprio programma medico.	Per ulteriori dettagli sull'uso di questi prodotti, il laboratorio deve consultare le procedure e i protocolli specificamente sviluppati e ottimizzati per il proprio programma medico.
5. Miscelare accuratamente.	5. Miscelare accuratamente.

**ISTRUZIONI PER L'USO****Supplemento Iofillizzato**

- Portare CHANG Medium C supplemento iofillizzato a temperatura ambiente.
- Usando tecniche in aspsi, aggiungere 10 ml o 50 ml di acqua distillata sterile al liofilo. Il flacone da 10 ml deve essere impiegato per CHANG Medium B Basal nel formato da 90 ml, mentre quello da 50 ml per CHANG Medium B Basal nel formato da 450 ml.
- Agitare delicatamente il flacone per rendere omogenea la soluzione. (NOTA: per dissolvere completamente il supplemento, potrebbe essere necessario incubare a 37 °C per 5-10 minuti).
- Incubare le colture indisturbate a 37 °C in atmosfera al 5 % di CO<sub>2</sub>.

- Al giorno 2, aggiungere alle colture 2 ml di CHANG Medium C.
- Dopo 4-5 giorni, verificare la crescita delle colture e arricchirle non appena si osserva una crescita. Arricchire le colture rimuovendo tutto il surnatante e aggiungere 2 ml di CHANG Medium C fresco. Successivamente, si raccomanda di arricchire le colture ogni 2 giorni.
- Controllare la crescita delle colture a partire dal giorno 5 e raccogliere quando si osservano sufficienti colonie.
- I risultati migliori si ottengono quando le colture sono arricchite con CHANG Medium C il giorno prima della raccolta.

**uso di CHANG Medium C per colture primarie Metodologie in fiasca**

- Centrifugare rapidamente CHANG Medium C supplemento agitando il flacone in un bagno d'acqua a 37 °C.
- Trasferire in condizioni aseptiche l'intero contenuto di CHANG Medium C supplemento scongelato nel flacone di CHANG Medium B Basal.
- Miscelare accuratamente CHANG Medium C completo agitando il flacone.
- Aggiungere L-glutammmina, 10,0 ml/l (200 mM). È possibile aggiungere antibiotici, se lo si ritiene necessario.
- Controllore la crescita delle colture a partire dal giorno 5 e raccogliere quando si osservano sufficienti colonie.
- Rispondere alla crescita delle colture in una piccola quantità di liquido amniotico della paziente. Ad esempio, aspirare il surnatante di 10 ml di liquido amniotico centrifugato fino a 1 ml sopra il pellet cellulare e rispondere. Aggiungere 2 ml di CHANG Medium C per raggiungere un volume totale di 5 ml per fiasca.
- Incubare le colture indisturbate a 37 °C in atmosfera al 5 % di CO<sub>2</sub>.
- Verificare la crescita della coltura al giorno 5. Sostituire il terreno con CHANG Medium C fresco e raccogliere se si osserva una crescita cellulare sufficiente.
- Dispansare, sempre in condizioni aseptiche, anche CHANG Medium B Basal in un numero di aliquote corrispondenti.
- Per preparare CHANG Medium C completo, aggiungere un'aliquota di CHANG Medium C supplemento scongelato a un'aliquota di CHANG Medium B Basal.
- Miscelare accuratamente.

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

## ESPAÑOL

### INDICACIÓN DE USO

El CHANG Medium C se puede usar para estas aplicaciones:

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

ESTE MEDIO SE HA DISEÑADO PARA SU USO EN SISTEMAS DE CULTIVO ABIERTOS (CULTIVOS EQUILIBRADOS EN UNA ATMÓSFERA CON UN 5 % DE CO<sub>2</sub>) Y CERRADOS (CULTIVOS INUNDADOS CON UN 5 % DE CO<sub>2</sub> E INCUBADOS CON RECIPIENTES DE CULTIVO HÉRMETICAMENTE CERRADOS).

### DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO

El CHANG Medium C se desarrolló para el cultivo primario de células de líquido amniótico humano que se utilizan en el cariotipado y otras pruebas genéticas prenatales. ESTA FÓRMULA SE HA OPTIMIZADO TANTO PARA SISTEMAS ABIERTOS COMO CERRADOS.

### COMPONENTES

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

### GARANTÍA DE CALIDAD

#### ESTERILIDAD

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

#### PREPARACIÓN PARA EL USO

##### Lyophilized Supplement

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

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

##### Suplemento congelado

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

### DIVIDIR EN ALÍCUOTAS EL CHANG MEDIUM C SUPPLEMENT

#### Lyophilized Supplement

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

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

##### Suplemento congelado

- Reconstituir el suplemento congelado del CHANG Medium C.
- Repartir en aliquotas de tamaño adecuado en condiciones asepticas y volver a congelar. (NOTA: El vial del suplemento contiene 14 ml o 70 ml. Distribuir de forma equitativa.)
- Dispensar asimismo en condiciones asepticas el CHANG Medium B Basal en el número correspondiente de aliquotas.

- Para preparar el CHANG Medium C completo, añadir una aliquota del CHANG Medium C Supplement descongelado a una aliquota del CHANG Medium B Basal.
- Mezclar bien.

### INSTRUCCIONES DE USO

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

Para más detalles sobre la utilización de estos productos, consultar los protocolos y los procedimientos de su propio laboratorio, que se habrán desarrollado y optimizado específicamente de acuerdo con su programa médico particular.

#### Uso del CHANG Medium C para cultivos primarios: Métodos *in situ*

- Centrifugar el líquido amniótico a baja velocidad para concentrar las células.
- Resuspender el sedimento celular en un pequeño volumen del propio líquido amniótico de la paciente. Por ejemplo, aspirar el sobrenadante de 0,5 ml por encima del sedimento celular y resuspender. Añadir suficiente CHANG Medium C a la suspensión celular concentrada para disponer de un volumen final de siembra de 0,5 ml por cubreobjetos (en total, 4 cubreobjetos) o 2 ml por frasco.
- Incubar los cultivos sin perturbaciones a 37 °C en una atmósfera con 5 % de CO<sub>2</sub>.

## FRANÇAIS

### INDICATION D'UTILISATION

CHANG Medium C peut être utilisé pour les applications suivantes :

- La culture primaire des cellules du liquide amniotique ;
- Le repiquage des cellules du liquide amniotique ;
- La culture des cellules de la moelle osseuse ;
- La culture des tissus des préliminaires de villosités choriales de la membrane amniotique.

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

### DESCRIPTION DU DISPOSITIF

CHANG Medium C a été conçu pour la culture primaire des cellules de liquide amniotique humain lors du caryotypage et des autres tests de diagnostic génétique prénatal. CETTE FORMULE A ÉTÉ OPTIMISÉE POUR LES SYSTÈMES OUVERTS ET FERMÉS.

### COMPOSANTS

Sels et ions	Protéines, hormones et facteurs de croissance	Indicateur de pH
Chlorure de sodium	Sérum de veau fetal (SVF)	Rouge de phénol
Sélénite de sodium	Sérum de veau	Vitamines et oligo-éléments
Chlorure de calcium	Sérum de veau naissant	Acide ascorbique
Chlorure de choline	Transferrine humaine	Nicotinamide
Chlorure de potassium	Facteur de croissance des fibroblastes	Acide pantothénique
Phosphate de potassium	Insuline	Cobalamine
Chlorure de magnésium	Progéstérone	Pyridoxal
Sulfate de magnésium	Testostérone	Pyridoxine
Sulfate de magnésium	Béta-estradiol	Eau
Sulfate de fer	Hydrocortisone	Qualité WFI
Sulfate de cuivre		Autre
Sulfate de zinc		Hypoxanthine
Tampon		Biotine
		Putrescine
		Arginine
		Alcool éthylique
		Asparagine
		Acide thioglycolique
		Cystéine
		Désoxyadénosine
		Acide glutamique
		Désoxyuridine
		Glycine
		Adénosine
		Cytidine
		Guanosine
		Thymidine
		Uridine
		Substrats énergétiques
		Glucose
		Pyruvate
		Inositol
		Tryptophane
		Tyrosine
		Valine

### ASSURANCE QUALITÉ

#### STÉRILITÉ

Le sérum utilisé dans la fabrication du supplément de CHANG Medium C a été testé pour les contaminations virales selon le code des réglementations fédérales CFR Title 9 Part 113.53. Il a été aussi testé pour les contaminations par mycoplasme. Le milieu de base de CHANG Medium B et le supplément de CHANG Medium C sont stérilisés par filtration avec des filtres de 0,1 µm. Des échantillons de milieu de base de CHANG Medium B et de supplément de CHANG Medium C sont testés pour une éventuelle contamination bactérienne selon le protocole de test de stérilité décrit dans le test de stérilité courant de la pharmacopée américaine (USP) <71>.

#### CONSERVATION Y ESTABILIDAD

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

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

#### PRÉCAUCIONES Y ADVERTENCIAS

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

No utilizar los componentes del CHANG Medium C más allá de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta respectiva.

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

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

##### Supplément congelé

- Décongeler rapidement le supplément congelé de CHANG Medium C en agitant le tube dans un bain-marie à 37 °C.
- Transférer stérilement le contenu complet du supplément décongelé de CHANG Medium C dans le tube de milieu de base de CHANG Medium B.

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

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

##### Supplément lyophilisé

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

- Reconstituer le supplément lyophilisé de CHANG Medium C.
- Répartir stérilement en plusieurs aliquotes de taille appropriée et congelier.
- Répartir stérilement le milieu de base de CHANG Medium B en un nombre égal d'aliquotes.
- Répartir stérilement en plusieurs aliquotes de taille appropriée et congelier.
- Remettre le culot cellular en suspension dans 1 ml de CHANG Medium C en ajoutant une aliquote de supplément décongelé de CHANG Medium C à une aliquote de milieu de base de CHANG Medium B.

##### Supplément congelé

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

##### Bien mélanger.

#### MODE D'EMPLOI

LE pH DU MILIEU UTILISÉ POUR ALIMENTER LES CULTURES DOIT SE SITUER ENTRE 6,8 ET 7,2 (c.-à-d. le milieu doit être de couleur légèrement jaunâtre-saumon). Le pH peut facilement être ajusté en placant le tube du milieu dans une étuve à CO<sub>2</sub> (5 à 8 %), le bouchon légèrement dévisé.

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

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

#### Utilisation de CHANG Medium C pour les cultures primarias : métodos *in situ*

- Centrifuguer le liquide amniotique à faible vitesse pour concentrer les cellules.
- Remettre le culot cellular en suspension dans un petit volume du liquide amniotique de la paciente. Par exemple, aspirer le surrigeant obtenu en centrifugeant 10 ml de liquide amniotique et remettre le culot en suspension dans 0,5 ml de ce liquide. Ajouter suffisamment de CHANG Medium C à la

suspension concentrée des cellules pour obtenir un volume final nécessaire pour 4 lamelles (0,5 ml par lamelle) ou 2 ml par petit flacon de culture.

- Incuber les cultures sans agitation à 37 °C en atmosphère de CO<sub>2</sub> à 5 %.

- Inonder les culturas del día 2 añadiendo 2 ml de CHANG Medium C.
- Comprobar el crecimiento de los cultivos a partir del día 5 y cosecharlos cuando se observen suficientes colonias.
- Los mejores resultados se obtienen cuando los cultivos se nutren con el CHANG Medium C el día antes de la cosecha.

#### Supplément lyophilisé

1. Centrifuguer le liquide amniotique à faible vitesse pour concentrer les cellules.

2. Remettre le culot cellular en suspension dans un petit volume du liquide amniotique de la paciente. Par exemple, aspirer le surrigeant obtenu en centrifugeant 10 ml de liquide amniotique et remettre le culot en suspension dans 1 ml de ce liquide. Ajouter 4 ml de CHANG Medium C pour obtener un volume total de 5 ml par flacon.

3. Incuber les cultures sans agitation à 37 °C en atmosphère de CO<sub>2</sub> à 5 %.

4. Vérifier la croissance des cultures le cinquième jour. Changer el milieu avec du CHANG Medium C fresco y proceder a la collecte lorsqu'une croissance suffisante des celulas es observada.

5. Examinar la croissance y cambiar completamente el medio todos los dos días jusqu a que el numero de las colonias sea suficiente para la colecta.

6. Los mejores resultados son obtenidos lorsque las culturas son alimentadas con CHANG Medium C la veille de la colecta.

#### Utilisation de CHANG Medium C pour les culturas primarias : métodos de cultura en flacones

1. Centrifuguer le liquide amniotique à faible vitesse pour concentrer les celulas.

2. Remettre el culot cellular en suspension dans un petit volume del liquide amniotique de la paciente. Par exemple, aspirar el surrigeant obtenu en centrifugando 10 ml de liquide amniotico y remettre el culot en suspencion dans 0,5 ml de ce liquido.

3. Agitar el vial con suavidad para su disolucion completa. (NOTA: a veces hay que incubar el vial

ses fonctions se soient compromises. La conservation au-delà de 10 jours n'est pas recommandée.

#### NE PAS CONGELER LE MILIEU COMPLET DE CHANG MEDIUM C

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

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

## PORTEGUÊS

### INDICAÇÃO DE UTILIZAÇÃO

O CHANG Medium C pode ser utilizado nas seguintes aplicações:

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

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

### Descrição do dispositivo

O CHANG Medium C foi desenvolvido para a cultura primária de células do líquido amniótico humano para utilização no cariotipogram e noutros testes genéticos pré-natais. ESTA FÓRMULA FOI OTIMIZADA TANTO PARA SISTEMAS ABERTOS COMO FECHADOS.

### COMPONENTES

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

### GARANTIA DE QUALIDADE

#### ESTERILIDADE

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

### PREPARAÇÃO PARA UTILIZAÇÃO

#### Suplemento liofilizado

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

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

#### Suplemento congelado

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

### DIVIDIR EM ALIQUOTAS O SUPLEMENTO CHANG MEDIUM C

#### Suplemento liofilizado

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

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

#### Suplemento congelado

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

### INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

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

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

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

#### Utilização do CHANG Medium C para culturas primárias: Metodologias in situ

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

concentrada para permitir o volume final em placa equivalente a 0,5 ml por lamela (total de 4 lamelas) ou 2 ml por frasco de cultura.

3. Incube as culturas sem interferência a 37 °C numa atmosfera de 5% de CO<sub>2</sub>.
4. Inunde as culturas no 2.º dia, adicionando 2 ml de CHANG Medium C.
5. O crescimento das culturas deve ser verificado após 4 a 5 dias. Logo que se observe crescimento, as culturas devem ser alimentadas. Alimente as culturas, removendo todo o sobrenadante da cultura e substituindo-o por 2 ml de CHANG Medium C fresco. Recomenda-se que as culturas sejam alimentadas a cada 2 dias daí em diante.
6. Verifique o crescimento das culturas no 5.º dia ou após esse dia e proceda à colheita quando se observarem colônias suficientes.
7. Os melhores resultados obtêm-se quando as culturas são alimentadas com CHANG Medium C no dia anterior à colheita.

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

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

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

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

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

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

### CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE

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

Proteger da luz fluorescente.

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

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

### NÃO CONGELE O CHANG MEDIUM C COMPLETO.

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

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

## ΕΝΔΕΙΞΗ ΧΡΗΣΗΣ

### Λιοφιλοποιημένο συμπλήρωμα

- Αφήστε το λιοφιλοποιημένο συμπλήρωμα CHANG Medium C να ισορροπήσει σε θερμοκρασία δωματίου
- Χρησιμοποιώντας άσπρης τεχνικές, προσθέτετε 10 mL ή 50 mL αποστρεμένου απεσταγμένου νερού στο λιοφιλοποιημένο υλικό. Το φιαλίδιο των 10 mL προορίζεται για 90 mL CHANG Medium B Basal. Το φιαλίδιο των 50 mL προορίζεται για 450 mL CHANG Medium B Basal.
- Περιδινίστε το φιαλίδιο μήπεις κινήσεις για να δημιουργηθεί πλήρες διάλυμα. (ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Μπορεί να χρειαστεί να επιώσετε το φιαλίδιο στους 37 °C για 5-10 λεπτά, ώστε να διαλυθεί πλήρως το συμπλήρωμα).
- Μεταφέρετε υπό άσπρης συνθήκες όλα τα περιεχόμενα του αναστατωμένου συμπλήρωμας CHANG Medium C στη φιάλη του CHANG Medium B Basal.
- Αναμείτε καλά το πλήρες CHANG Medium C περιδινίζοντας τη φιάλη.
- Προσθέτετε L-γλουταμίνη, 10,0 mL/L (200 mM). Μπορείτε να προσθέτετε αντιβιοτικά αν το επιθυμείτε.

### Κατευμένο συμπλήρωμα

- Αποφύγετε το κατευμένο συμπλήρωμα CHANG Medium C γρήγορα, περιδινίζοντας το φιαλίδιο σε υδατόλουτρο θερμοκρασίας 37 °C.
- Μεταφέρετε υπό άσπρης συνθήκες όλα τα περιεχόμενα του αποστρεμένου συμπλήρωμας CHANG Medium C στη φιάλη του CHANG Medium B Basal.
- Αναμείτε καλά το πλήρες CHANG Medium C περιδινίζοντας τη φιάλη.
- Προσθέτετε L-γλουταμίνη, 10,0 mL/L (200 mM). Μπορείτε να προσθέτετε αντιβιοτικά αν το επιθυμείτε.
- Ελέγχετε την ανάπτυξη των καλλιέργειών την 5η ημέρα, ή μετά από αυτήν, και συλλέξτε όταν παρατηρήσετε επαρκής αποκίνησης.
- Τα καλύτερα αποτελέσματα λαμβάνονται όταν οι καλλιέργειες τρέφονται με CHANG Medium C που υποδεικνύεται στις επιμέρους ετικέτες.

### ΔΙΑΜΟΡΑΣΜΟΣ ΤΟΥ ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑΤΟΣ CHANG MEDIUM C ΣΕ ΚΛΑΣΜΑΤΑ

#### Λιοφιλοποιημένο συμπλήρωμα

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

- Ανασυστήτε το λιοφιλοποιημένο συμπλήρωμα CHANG Medium C.
- Διανείμετε, υπό άσπρης συνθήκες, σε πρακτικού μεγέθους κλάσματα και καταψύξτε.
- Διανείμετε, επίσης υπό άσπρης συνθήκες, το CHANG Medium B Basal σε αντίστοιχο αριθμό κλασμάτων.
- Για να προετοιμάστε το πλήρες CHANG Medium C, προσθέστε ένα κλάσμα αποψυγμένου συμπλήρωμας CHANG Medium C σε ένα κλάσμα CHANG Medium B Basal.
- Αναμείτε καλά.

#### Κατευμένο συμπλήρωμα

- Αποφύγετε το κατευμένο συμπλήρωμα CHANG Medium C.
- Διανείμετε, υπό άσπρης συνθήκες, σε πρακτικού μεγέθους κλάσματα και καταψύξτε τα ξανά. (ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Το φιαλίδιο συμπλήρωμας περιέχει 14 mL ή 70 mL. Διανείμετε ισότιμα.)
- Διανείμετε, επίσης υπό άσπρης συνθήκες, το CHANG Medium B Basal σε αντίστοιχο αριθμό κλασμάτων.
- Για να προετοιμάστε το πλήρες CHANG Medium C, προσθέστε ένα κλάσμα αποψυγμένου συμπλήρωμας CHANG Medium C σε ένα κλάσμα CHANG Medium B Basal.
- Αναμείτε καλά.

#### ΟΔΗΓΙΣΣΕΣ ΧΡΗΣΗΣ

Το pH του μεσού που χρησιμοποιείται στην παραγωγή του συμπλήρωματος CHANG Medium C έχει ελεγχθεί για ιογενή μόλυνση σύμφωνα με το CFR Title 9 Part 113.53. Εχει επίσης εξεταστεί για μόλυνση από μυκόπλαστα. Τόσο το CHANG Medium B Basal όσο και το συμπλήρωμα CHANG Medium C έχουν αποστρεμένο μέσω διήθησης με φίλτρο 0,1 μικρομέτρων. Αντιπροσωπευτικά δείγματα του CHANG Medium B Basal και του συμπλήρωματος CHANG Medium C ελέγχονται για πιθανή βακτηριολογική μόλυνση, ακολουθώντας το πρωτόκολλο δοκιμασίας στειρότητας που περιγράφεται στην τρέχουσα δοκιμασία στειρότητας κατά USP <71>. Το τελικό pH τρέπεται να είναι 6,8 - 7,2.

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

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

- Φυγοκεντρίστε το αρινικό υγρό σε χαμηλή ταχύτητα, για συμπύκνωση των κυττάρων, επεξέργαστε τις καλλιέργειες με θρυψίνη (ή προνάστη κ.λπ.) ώστε να κάνετε εάν τα κύτταρα καλλιεργούνται σε συμβατικό μέσο. Ωστόσο, η επεξέργαση με πρωτάριση θα πρέπει να παρακολουθείται προσεκτικά. Τα κύτταρα αρινικού υγρού που καλλιεργούνται στο CHANG Medium C τινόνται να είναι περισσότερο ευαίσθητα στην επεξέργαση με πρωτάριση από τα κύτταρα του αρινικού υγρού που καλλιεργούνται σε συμβατικά μέσα. Μπορεί να χρειαστεί να επιώσετε το φιαλίδιο στους 37 °C για 5-10 λεπτά, ώστε να διαλυθεί πλήρως το συμπλήρωμα).
- Περιδινίστε το φιαλίδιο μήπεις κινήσεις για να δημιουργηθεί πλήρες διάλυμα. (ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Μπορεί να χρειαστεί να επιώσετε το φιαλίδιο στους 37 °C για 5-10 λεπτά, ώστε να διαλυθεί πλήρως το συμπλήρωμα).
- Μεταφέρετε υπό άσπρης συνθήκες το παρασχετήται τελικός όγκος 0,5 mL ανά καλυπτρίδα (συνολικά 4 καλυπτρίδες) 1 mL ανά μπουκαλάκι.
- Επωάστε τις καλλιέργειες σε αδιατάρακτες σε απόστραφο 5% CO<sub>2</sub> στους 37 °C.
- Γεμίστε τις καλλιέργειες τη 2η ημέρα, προσθέτοντας 2 mL CHANG Medium C.

- Μετά από 4 ώρες, οι καλλιέργειες θα πρέπει να ελέγχονται για την ανάπτυξη τους. Η παροχή θερηπτικού υλικού στις καλλιέργειες θα πρέπει να γίνεται αφού παρατηρήσετε ανάπτυξη. Παρέχετε θερηπτικό υλικό στις καλλιέργειες αφαιρώντας ολόκληρη την ποσότητα του υπερκείμενου υγρού της καλλιέργειας και αντικαθιστώντας το με 2 mL φρέσκου CHANG Medium C. Συνιστάται η παροχή θερηπτικού υλικού στις καλλιέργειες κάθε 2 ημέρες από το σημείο και έπειτα.
- Ελέγχετε την ανάπτυξη των καλλιεργιών την 5η ημέρα, ή μετά από αυτήν, και συλλέξτε όταν παρατηρήσετε επαρκής αποκίνησης.
- Τα καλύτερα αποτελέσματα λαμβάνονται όταν οι καλλιέργειες τρέφονται με CHANG Medium C που υποδεικνύεται στις επιμέρους ετικέτες.

#### ΜΗΝΙΑΙΚΟ ΔΙΑΛΥΜΑ

- Πούστα στην ενέσιμου ύδατος (WFI)
- Καθαρό υγρό
- Προσθέτετε L-γλουταμίνη, 10,0 mL/L (200 mM). Μπορείτε να προσθέτετε αντιβιοτικά αν το επιθυμείτε.
- Ελέγχετε την ανάπτυξη των καλλιεργιών την 5η ημέρα, ή μετά από αυτήν, και συλλέξτε όταν παρατηρήσετε επαρκής αποκίνησης.
- Τα καλύτερα αποτελέσματα λαμβάνονται όταν οι καλλιέργειες τρέφονται με CHANG Medium C που υποδεικνύεται στις επιμέρους ετικέτες.

#### ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΕΙΣ

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

Μη χρησιμοποιείτε τα συστατικά του CHANG Medium C μετά την παρέλευση της συμπλήρωμας.

Η ρύπανση της συσκευής προορίζεται για χρήση από πρωτοτυπού που έχει εκταίνειτε σε διαδικασίες που περιλαμβάνουν την υποδεικνύμενη εφαρμογή για την οποία προορίζεται η συσκευή.

Η ρύπανση της συσκευής προορίζεται για χρήση από πρωτοτυπού που έχει εκταίνειτε σε διαδικασίες που περιλαμβάνουν την υποδεικνύμενη εφαρμογή για την οποία προορίζεται η συσκευή.

Η ρύπανση της συσκευής προορίζεται για χρήση από πρωτοτυπού που έχει εκταίνειτε σε διαδικασίες που περιλαμβάνουν την υποδεικνύμενη εφαρμογή για την οποία προορίζεται η συσκευή.

Η ρύπανση της συσκευής προορίζεται για χρήση από πρωτοτυπού που έχει εκταίνειτε σε διαδικασίες που περιλαμβάνουν την υποδεικνύμενη εφαρμογή για την οποία προορίζεται η συσκευή.

Η ρύπανση της συσκευής προορίζεται για χρήση από πρωτοτυπού που έχει εκταίνειτε σε διαδικασίες που περιλαμβάνουν την υποδεικνύμενη εφαρμογή για την οποία προορίζεται η συσκευή.

Η ρύπανση της συσκευής προορίζεται για χρήση από πρωτοτυπού που έχει εκταίνειτε σε διαδικασίες που περιλαμβάνουν την υποδεικνύμενη εφαρμογή για την οποία προορίζεται η συσκευή.

Η ρύπανση της συσκευής προορίζεται για χρήση από πρωτοτυπού που έχει εκταίνειτε σε διαδικασίες που περιλαμβάνουν την υποδεικνύμενη εφαρμογή για την οποία προορίζεται η συσκευή.

Η ρύπανση της συσκευής προορίζεται για χρήση από πρωτοτυπού που έχει εκταίνειτε σε διαδικασίες που περιλαμβάνουν την υποδεικνύμενη εφαρμογή για την οποία προορίζεται η συσκευή.

Η ρύπανση της συσκευής προορίζεται για χρήση από πρωτοτυπού που έχει εκταίνειτε σε διαδικασίες που περιλαμβάνουν την υποδεικνύμενη εφαρμογή για την οποία προορίζεται η συσκευή.

Η ρύπανση της συσκευής προορίζεται για χρήση από πρωτοτυπού που έχει εκταίνειτε σε διαδικασίες που περιλαμβάνουν την υποδεικνύμενη εφαρμογή για την οποία προορίζεται η συσκευή.

Η ρύπανση της συσκευής προορίζεται για χρήση από πρωτοτυπού που έχει εκταίνειτε σε διαδικασίες που περιλαμβάνουν την υποδεικνύμενη εφαρμογή για την οποία προορίζεται η συσκευή.

Η ρύπανση της συσκευής προορίζεται για χρήση από πρωτοτυπού που έχει εκταίνειτε σε διαδικασίες που περιλαμβάνουν την υποδεικνύμενη εφαρμογή για την οποία προορίζεται η συσκευή.

Η ρύπανση της συσκευής προορίζεται για χρήση από πρωτοτυπού που έχει εκταίνειτε σε διαδικασίες που περιλαμβάνουν την υποδεικνύμενη εφαρμογή για την οποία προορίζεται η συσκευή.

Η ρύπανση της συσκευής προορίζεται για χρήση από πρωτοτυπού που έχει εκταίνειτε σε διαδικασίες που περιλαμβάνουν την υποδεικνύμενη εφαρμογή για την οποία προορίζεται η συσκευή.

Η ρύπανση της συσκευής προορίζεται για χρήση από πρωτοτυπού που έχει εκταίνειτε σε διαδικασίες που περιλαμβάνουν την υποδεικνύμενη εφαρμογή για την οποία προορίζεται η συσκευή.

Η ρύπανση της συσκευής προορίζεται για χρήση από πρωτοτυπού που έχει εκταίνειτε σε διαδικασίες που περιλαμβάνουν την υποδεικνύμενη εφαρμογή για την οποία προορίζεται η συσκευή.

Η ρύπανση της συσκευής προορίζεται για χρήση από πρωτοτυπού που έχει εκταίνειτε σε διαδικασίες που περιλαμβάνουν την υποδεικνύμενη εφαρμογή για την οποία προορίζεται η συσκευή.

Η ρύπανση της συσκευής προορίζεται για χρήση από πρωτοτυπού που έχει εκταίνειτε σε διαδικασίες που περιλαμβάνουν την υποδεικνύμενη εφαρμογή για την οποία προορίζεται η συσκευή.

Η ρύπανση της συσκευής προορίζεται για χρήση από πρωτοτυπού που έχει εκταίνειτε σε διαδικασίες που περιλαμβάνουν την υποδεικνύμενη εφαρμογή για την οποία προορίζεται η συσκευή.

Η ρύπανση της συσκευής προορίζεται για χρήση από πρωτοτυπού που έχει εκταίνειτε σε διαδικασίες που περιλαμβάνουν την υποδεικνύμενη εφαρμογή για την οποία προορίζεται η συσκευή.

Η ρύπανση της συσκευής προορίζεται για χρήση από πρωτοτυπού που έχει εκταίνειτε σε διαδικασίες που περιλαμβάνουν την υποδεικνύμενη εφαρμογή για την οποία προορίζεται η συσκευή.

Η ρύπανση της συσκευής προορίζεται για χρήση από πρωτοτυπού που έχει εκταίνειτε σε διαδικασίες που περιλαμβάνουν την υποδεικνύμενη εφαρμογή για την οποία προορίζεται η συσκευή.

Η ρύπανση της συσκευής προορίζεται για χρήση από πρωτοτυπού που έχει εκταίνειτε σε διαδικασίες που περιλαμβάνουν την υποδεικνύμενη εφαρμογή για την οποία π

**INDIKATIONER FOR ANVENDELSE**

CHANG Medium C kan anvendes til følgende applikationer:

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

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

**BESKRIVELSE AF PRODUKTET**

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

**KOMPONENTER****Salte og ioner**

Natriumklorid  
Natriumselenit  
Kalciumklorid  
Kolinklorid  
Kaliumklorid  
Kaliumfosfat  
Magnesiumklorid  
Magnesiumsulfat  
Natriumsulfat  
Jernsulfat  
Cuprisulfat  
Zinksulfat  
Buffer  
Natriumbikarbonat  
Aminosyrer  
Alanin  
Arginin  
Asparagin  
Asparaginsyre  
Cystein  
Cystin  
Glutaminsyre  
Glutamin  
Glycin  
Histidin  
Isoleucin  
Leucin  
Lysin  
Methionin  
Phenylalanin  
Prolin  
Serin  
Threonin  
Tryptofan  
Tyrosin  
Valin

**Proteiner, hormoner og vækstfaktorer**

Født bovin serum (FBS)  
Serum fra nyfødt kalv  
Human transferrin  
Fibroblastvækstfaktor (FGF)  
Insulin  
Progesteron  
Testosteron  
Bela-adriadiol  
Hydrokortison  
Vand  
Af kvalitet til injektionsvæske  
Andet  
Hypoxanthin  
Biotin  
Putrescin  
Ætylalkohol  
Antioxidant  
Thiocyste  
Nukleinsyrer  
Deoxyadenosin  
Deoxyctidin  
Deoxyguanosin  
Adenosin  
Cytidin  
Guanosin  
Thymidin  
Uridin  
Energisubstrater  
Glukose  
Pyruvat  
Inositol

**pH-indikator**

Red fenol  
Vitaminer og sporelementer  
Ascorbinsyre  
Folinsyre  
Nicotinamid  
Riboflavin  
Thiamin  
Pantothensyre  
Cobalamin  
Pyridoxal  
Pyridoxin

4. Overfør aseptisk hele indholdet af det rekonstituerede CHANG Medium C-supplement til flasken med CHANG Medium B Basal.
5. Bland complete CHANG Medium C godt ved at hvirle flasken.
6. Tilset L-glutamin, 10,0 ml/l (200 mM). Der kan eventuelt tilsettes antibiotika.

**Frossent supplement**

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

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

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

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

**Frossent supplement**

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

**BRUGSANVISNING**

pH-VERDIEN AF DET MEDIUM, DER ANVENDES TIL KULTURERNE, SKAL VÆRE 6,8-7,2 (dvs. at mediet skal have en let gullig laksefarve). pH-verdiens kan let justeres ved at anbringe mediet i en inkubator med 5-8 % CO<sub>2</sub>, med læget løstet let.

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

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

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

1. Centrifugér amnionvæsken ved lav hastighed for at koncentrere cellerne.
2. Resuspendér cellepelletten i en lille volumen af patientens egen amnionvæske. Aspirér f.eks. supernatanten fra 10 ml centrifugeret amnionvæske til 0,5 ml over cellepelletten, og resuspendér. Tilset nok CHANG Medium C til den koncentrerede cellesuspension til at få en endelig udsåningsvolumen på 0,5 ml pr. dækglas (i alt 4 dækglas) eller 2 ml pr. ampul.
3. Inkubér kulturerne uforstyrret ved 37 °C i en atmosfære med 5 % CO<sub>2</sub>.
4. Skyl kulturerne på dag 2 ved at tilsette 2 ml CHANG Medium C.
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 C. Det anbefales, at kulturerne næres hver anden dag herefter.

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

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

1. Resuspendér cellepelletten i en lille volumen af patientens egen amnionvæske. Aspirér f.eks. supernatanten fra 10 ml centrifugeret amnionvæske til 1 ml over cellepelletten, og resuspendér. Tilset 4 ml CHANG Medium C, så den totale volumen er 5 ml pr. kolbe.
3. Inkubér kulturerne uforstyrret ved 37 °C i en atmosfære med 5 % CO<sub>2</sub>.
4. Kontroller væksten på dag 5. Udskift mediet med friskt CHANG Medium C, og høst, hvis der observeres tilstrækkelig cellevækst.
5. Kontroller kulturernes vækst, og udskift mediet fuldstændigt hver anden dag herefter, indtil der observeres nok kolonier, som er klar til at blive høstet.
6. De bedste resultater opnås, hvis kulturerne forsynes med CHANG Medium C dagen inden høsten.

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

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

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

**Bemærk:** Chang Medium C kan udvikle proteinudfældning ved optøning. Denne proteinudfældning har ikke nogen kendt indvirknings på produkets ydeevne.

**OPBEVARING OG STABILITET**

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

Beskyttes mod fluorescerende lys.

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

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

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

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

**KVALITETSSIKRING****STERILITET**

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

**KLARGØRING****Lyofiliseret supplement**

1. Lad CHANG Medium C lyofiliseret supplement økvilibrere til stuetemperatur.
2. Brug aseptisk teknik, og tilset 10 ml eller 50 ml steril, destilleret vand til lyfilisatet. 10 ml flasken er til 90 ml CHANG Medium B Basal, og 50 ml flasken er til 450 ml CHANG Medium B Basal.
3. Hvirvl flasken forsigtigt, så indholdet oploses helt. (BEMÆRK: Det kan være nødvendigt at inkubere flasken ved 37 °C i 5-10 minutter for at oplose supplementet helt).



## NEEDERLANDS

### INDICATIE VOOR GEBRUIK

CHANG Medium C kan worden gebruikt voor de volgende toepassingen:

1. de primaire kweek van vruchtwatervellen
2. het groeien van gepasseerde vruchtwatervellen
3. de kweek van beenmergcellen
4. vast ammoniumweefsel van een chorionvillusbiopsie.

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

### BESCHRIJVING VAN HET HULPMIDDEL

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

### COMPONENTEN

Zouten en ionen	Eiwitten, hormonen en groeifactoren	pH-indicator
Natriumchloride	Foetaal	Fenolrood
Natriumseleniet	runderserum (FBS)	Vitamines en spoorelementen
Calciumchloride	Pasgeboren	Ascorbinezuur
Cholinechloride	Kalfserum	Foliumzuur
Kaliumchloride	Menselijk	Nicotinamide
Kaliumfosfaat	transferine	Riboflavine
Magnesiumchloride	Fibroblast	Thiamine
Magnesiumsulfaat	groeiactor (FGF)	Pantotheenzuur
Natriumsulfaat	Insuline	Cobalamine
Ferrosofataat	Progesteron	Pyridoxamine
Cuprisulfaat	Testosteron	Pyridoxine
Zinksulfaat	Béta-oestradiol	
Buffer	Hydrocortison	
Natriumbicarbonaat	Water	
Aminozuren	Farmaceutisch	
Alanine	kwaliteitswater	
Arginine	(WFI)	
Asparagine	Overige	
Asparaginezuur	Hypoxanthine	
Cysteine	Biotine	
Cystine	Putrescine	
Glutaminezuur	Ethylalcohol	
Glutamine	Antioxidant	
Glycine	Alfa-liponzuur	
Histidine	Nucleïnezuuren	
Isoleucine	Deoxyadenosine	
Leucine	Deoxycytidine	
Lysine	Deoxyguanosine	
Methionine	Adenosine	
Fenylalanine	Cytidine	
Proline	Guanosine	
Serine	Thymidine	
Treonine	Uridine	
Tryptofaan	Energiesubstraten	
Tyrosine	Glucose	
Valine	Pyruvaat	
	Inositol	

### KWALITEITSBORING

#### STERILITEIT

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

### VOORBEREIDING OP HET GEBRUIK

#### Gelyofiliseerd supplement

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

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

#### Bevroren supplement

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

### OPDELEN VAN CHANG MEDIUM C SUPPLEMENT

#### Gelyofiliseerd supplement

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

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

#### Bevroren supplement

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

#### GEbruIKSAANWIJZING

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

De uiteindelijke pH moet tussen 6,8 en 7,2 liggen. Voor aanvullende informatie over het gebruik van deze producten dienen alle laboratoria hun eigen laboratoriumprocedures en -protocollen te raadplegen die speciaal zijn ontwikkeld en geoptimaliseerd voor uw individueel medisch programma.

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

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

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

5. Controleer na 4 à 5 dagen of de kweeken zijn gegroeid. Nadat is vastgesteld dat de kweeken groeien, moeten ze worden gevoed. Voed de kweeken door al het kweeksupernat te verwijderen en te vervangen door 2 ml vers CHANG Medium C. Aanbevolen wordt de kweeken daarna elke twee dagen te voeden.
6. Controleer de kweeken op of na dag 5 op groei en oogst als er voldoende koloniën worden waargenomen.

7. De beste resultaten worden verkregen als de kweeken op de dag vóór het oogsten met CHANG Medium C worden gevoed.

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

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

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

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

Passeer de cellen door de kweeken 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. Vruchtwatervellen die in CHANG Medium C zijn gekweekt, zijn vaak gevoeliger voor proteasebehandeling dan vruchtwatervellen die in een traditioneel medium zijn gekweekt. Houd hier rekening mee en wijzig zo nodig uw protocol.

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

#### BEWAREN EN STABILITEIT

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

Bescherm tegen fluorescentielicht.

Raadpleeg de etiketten op de flessen met individuele componenten voor specifieke houdbaarheidsdatums. Complete CHANG Medium C kan vóór gebruik gedurende 10 dagen worden bewaard bij een temperatuur van 2 °C tot 8 °C zonder dat dit de werking beïnvloedt. Het wordt aangeraden het product langer en 10 dagen te bewaren.

COMPLETE CHANG MEDIUM C NIET INVRIEZEN.

#### VOORZORGSAATREGELLEN EN

#### WAARSCHUWINGEN

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



**INDIKATIONER**

CHANG Medium C kan användas för följande tillämpningar:

1. primärödning av celler i amnionvätska
2. odling av celler från amnionvätska från passage
3. odling av bennärgsceller
4. fast amnionvävnad från chorionvilliopsi.

**DETTA MEDIUM HAR UTVECKLATS FÖR ANVÄNDNING BÅDE ÖPPNA (ODLINGAR EKVILIBERADE I EN 5 % CO<sub>2</sub>-ATMOSFÄR) OCH SLUTNA ODLINGSSYSTEM (ODLINGAR FLÖDÄDE MED 5 % CO<sub>2</sub> OCH INKUBERADE MED ODLINGS-KÄRLEN TÄTT FÖRSUTNA).**

**PRODUKTEKSKRIVNING**

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

**KOMPONENTER**

Salter och ioner	Proteiner, hormoner samt tillväxtfaktorer	pH-indikator
Natriumklorid	Fetalt bovin serum	Fenolrött
Natriumselenit	(FBS)	Vitaminer och spärämnen
Kaliumklorid	Serum från nyfödda kalvar	Askorbinsyra
Koliniklorid	Human transferrin	Folsyra
Kaliumklorid	Fibroblastväxtfaktor (FGF)	Nikotinamid
Kaliumfosfat	Insulin	Riboflavin
Magnesiumklorid	Progesteron	Tiamin
Magnesiumsulfat	Testosteron	Pantotensyra
Natriumfosfat	Betaestradiol	Kobalamin
Ferroksulfat	Hydrokortison	Pyridoxal
Koppar sulfat	Vatten	Pyridoxin
Zink sulfat		
Buffert		
Natriumbikarbonat		
Aminosyror		
Alanin	Vatten för injektion (WFI)	
Arginin	Övrigt	
Asparagin	Hypoxantin	
Asparaginsyra	Biotin	
Cystein	Putrescin	
Cystin	Etylalkohol	
Glutaminsyra	Antioxidant	
Glutamin	Tiotkinsyra	
Glycin	Nukleinsyror	
Histidin	Deoxyadenosin	
Isoleucin	Deoxycytidin	
Leucin	Deoxyguanosin	
Lysin	Adenosin	
Metionin	Cytidin	
Fenylanalanin	Guanosin	
Prolin	Tymidin	
Serin	Uridin	
Treonin	Energisubstrat	
Tryptofan	Glukos	
Tyrosin	Pyruvat	
Valin	Inositol	

**KVALITETSSÄKRING****STERILITET**

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

**BEREDNING FÖR ANVÄNDNING****Frysstorkat supplement**

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

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

**Fryst supplement**

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

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

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

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

**Fryst supplement**

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

**BRUKSANVISNING**

pH I DET MEDIUM SOM ANVÄNDS SOM NÄRINGS-SUBSTRATT TILL KULTURERNAMÄSTE VARA MELLAN 6,8–7,2 (dvs. mediet måste ha en svagt gulaktig laxfärg). pH kan justeras genom att mediet placeras i en 5–8 % CO<sub>2</sub>-incubator med locket något lössat.

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

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

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

1. Centrifugera amnionväskan på låg hastighet för att koncentrera cellerna.
2. Resuspendera cellpelleten i en liten volym av patientens egen amnionvätska. Aspirera t.ex. supernatanten från 10 ml centrifugerad amnionvätska till 0,5 ml ovanför cellpelleten och resuspendera. Tillsätt tillräckligt med CHANG Medium C till den koncentrerade celluspensionen för att möjliggöra en slitlig plattvolym på 0,5 ml per täckglas (totalt 4 täckglas), eller 2 ml per flaska.
3. Inkubera kulturerna, utan att störa dem, vid 37 °C i 5 % CO<sub>2</sub>-atmosfär.
4. Flöda kulturerna på dag 2 genom att tillsätta 2 ml CHANG Medium C.
5. Efter 4–5 dagar bör kulturerna kontrolleras med avseende på växt. Näringsbörl tillföras till kulturerna så snart växt har observerats. Tillför näring till kulturerna genom att avlägsna all supernatant från kulturen och ersätta den med 2 ml färskt CHANG Medium C. Det rekommenderas att därefter tillföra näring till kulturerna varannan dag.

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

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

1. Centrifugera amnionväskan på låg hastighet för att koncentrera cellerna.
2. Resuspendera cellpelleten i en liten volym av patientens egen amnionvätska. Aspirera t.ex. supernatanten från 10 ml centrifugerad amnionvätska till 1 ml ovanför cellpelleten och resuspendera. Tillsätt 4 ml CHANG Medium C till en total volym på 5 ml per flaska.
3. Inkubera kulturerna, utan att störa dem, vid 37 °C i 5 % CO<sub>2</sub>-atmosfär.
4. Kontrollera kulturerna med avseende på växt på dag 5. Byt ut mediet mot färskt CHANG Medium C och skördar om tillräcklig celväxt observeras.
5. Kontrollera kulturerna med avseende på växt och byt därefter helt ut mediet varannan dag tills tillräcklig med kolonier observeras och är klara att skördas.
6. Bästa resultat erhålls när kulturerna tillförs näring med CHANG Medium C dagen innan de skördas.

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

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

- För passage av cellerna, behandla kulturerna med proteasbehandlingen bör dock nog övervakas. Celler från amnionvätska som odlas i CHANG Medium C tenderar att vara känsligare för proteasbehandling än celler från amnionvätska som odlas i konventionellt medium. Ert protokoll kan behöva modifieras för att ta hänsyn till detta.

**Anm:** Vid upptinning av Chang Medium C kan en viss mängd proteinfallning bildas. Sådan proteinfallning har inte visats utöva någon effekt på produkten funktion.

**FÖRVARING OCH HÄLLBARHET**

Förvar CHANG Medium C fryst supplement vid en temperatur på under –10 °C, CHANG Medium C fryststorkat supplement vid 2–8 °C, CHANG Medium B Basal vid 2–8 °C samt komplett CHANG Medium C vid 2–8 °C. CHANG Medium B Basal får inte frysas.

Skyddas mot fluorescerande ljus.

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

**KOMPLETT CHANG MEDIUM C FÄR INTE FRYSAS.****FÖRSIKTIGHETSÄGÅRDER OCH VARNINGAR**

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

Använd inte CHANG Medium C-komponenter efter de utgångsdatumen som anges på de individuella etiketterna.



**NAUDOJIMO INDIKACIJA**

- „CHANG Medium C“ terpé galima naudoti šioms paskirtims:
1. amniono skyčio lastelių pirminei kultūrai;
  2. auginant perkeltas amniono skyčio lasteles;
  3. kaulų čiulų lastelių kultūrai;
  4. tvirto amniono audiniui, gautam paėmės choroniinių išaugų (gaurėlių) mėginius.

**ŠERPĖ YRA SKIRTA NAUDOTI ATVIROSE (KULTŪROS STABILIZUOTOS 5% CO<sub>2</sub> ATMOSFEROJE) IR UŽDAROSIO KULTŪRŲ SISTEMOJE (KULTŪROS APSEMSTOS 5 % CO<sub>2</sub> IR LAIKOMOS INKUBATORIJE PATTIKIMAI UŽDARIŪS KULTŪRŲ INDUS).**

**ITAISO APRASYMAS**

„CHANG Medium C“ terpé buvo sukurta žmogaus amniono skyčio lastelį pirminei kultūrai ir yra skirta naudoti atliekant kariotipavimą ir kita prenatalinį genetinių tyrimų. ŠI FORMULĖ BUVO OPTIMIZUOTA NAUDOTI ATVIROMS IR UŽDAROMS SISTEMOMS.

**SUDEDAMOSIOS DALYS**

Drusksis ir Jonai	Baltymai, hormonai ir augimo faktoriai	Energetiniai substratai
Natrio chloridas	Jaučio embronio kraujo serumas (FBS)	Glikozė Piruvatas Inozitolis
Natrio selenitas	Jaučio naujagimio kraujo serumas	pH indikatorius
Kalcio chloridas	Zmogaus transferinas	Fenolai, raudonasis Vitaminai ir mikroelementai
Cholino chloridas	Fibroblasto augimo faktorius (FGF)	Asktoro rūgtis
Kalio chloridas	Insulinas	Folio rūgtis
Kalio fosfatas	Progesteronas	Nicotinamidas
Magnio chloridas	Testosteronas	Riboflavinas
Magnio sulfatas	Beta estradiolius	Tiaminas
Natrio fosfatas	Hidrokortizonas	Pantoteninė rūgtis
Geležies sulfatas	Vanduo	Kobalaminas
Vario sulfatas	Iniekcinio vandens kokybė	Piridoksalis
Cinko sulfatas	Kita	Piridoksinas
Buterinis tirpalas	Hipoksantinas	
Natrio bikarbonatas	Biotinas	
Amino rūgtys	Putrescinas	
Alalinas	Etilo alkoholis	
Argininės	Antioxidantai	
Asparaginas	Lipo rūgtis	
Asparto rūgtis	Nukleino rūgtys	
Cisteinas	Deoksidiadenozinas	
Cistinas	Deoksiditinas	
Glutamo rūgtis	Dezoksiguanozinas	
Glutaminas	Adenozinas	
Glicinės	Citidinas	
Histidinės	Guanozinas	
Izoleucinės	Timidinas	
Leucinės	Uridinas	
Lizinės		
Metioninės		
Fenilalaninas		
Prolinės		
Serinas		
Treoninės		
Triptofanas		
Tirozinės		
Valinės		

**KOKYBĖS UŽTIKRINIMAS****STERILUMAS**

„CHANG Medium C“ papildo gamyboje naudotas serumas buvo patikrintas del užteršimo virusinė pagal CFR 9 antraičių dali, 113.53 dalį. Jis taip pat buvo patikrintas, ar nėra mikoplazmos užteršimo. „CHANG Medium B Basal“ ir „CHANG Medium C“ papildas yra sterilizuoti filtruojant per 0,1 mikrono filtrą. „CHANG Medium B Basal“ ir „CHANG Medium C“ papido tipiniai mėginių yra ištiriami didel galimo užteršimo bakterijomis, laikantis steriliu tyrimo protokolo, kuris apibūdintas pagal šiuo metu patvirtintą Jungtiniių Valstijų farmakopėjos steriliumo testą <71>.

**PARUOSIMAS NAUDOTI****Liofilizuotas papildas**

1. Palikite „CHANG Medium C“ liofilizuotą papildą pastovėti, kol taps kambario temperatūros.
2. Taikydami aseptinius metodus, į liofilizatą pridėkite 10 arba 50 ml sterilias distiliuoti vanden. 10 ml flakonas yra skirtas 90 ml „CHANG Medium B Basal“, 50 ml flakonas – 450 ml „CHANG Medium B Basal“.
3. Švelniai pasukinėkite flakoną, kad tirpalas susimaišytų. (PASTABA: Flakono gali reikėti palaikyti inkubatoriuje 37 °C temperatūroje 5–10 minučių, kad papildas visiškai ištirptu.)
4. Perkelkite visą atskieto „CHANG Medium C“ papido turinį į „CHANG Medium B Basal“ buteliuką, taikydami aseptinius metodus.

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

**Sušaldytas papildas**

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

**„CHANG MEDIUM C“ PRIEDO DALIJIMAS I PORCIJAS****Liofilizuotas papildas**

Jei per 10 dienų sunaudosite ne visą „CHANG Medium C“ terpé, galite pasigaminti mažesnius jos kiekius, laikydami šios modifikacijos procedūros:

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

**Sušaldytas papildas**

1. Atsildykite „CHANG Medium C“ sušaldytą papildą.
2. Aseptiškai paskirstykite į patogaus naudoti dydžio alikvotines dalis ir pakartotinai užsaldykite. (PASTABA: Papildlo flakonas yra 14 arba 70 ml tūrio. Tolgyjai paskirstykite.)
3. Aseptiškai padalykite „CHANG Medium B Basal“ į atitinkamą alikvotinį dalį skaičių.
4. Norėdami paruošti „CHANG Medium C“, vieną atsildyto „CHANG Medium C“ papido alikvotinę dalį dėkite į vieną „CHANG Medium B Basal“ alikvotinę dalį.
5. Gerai sumaišykite.

**NAUDOJIMO NURODYMAI**

KULTŪROS MAITINTI NAUDOJAMOS TERPÉS pH TURI BŪTI 6,8–7,2 (t. y. terpé turi būti gelvos lašišinės spalvos), pH galima lengvai pakoreguti į jendant terpé į 5–8 % CO<sub>2</sub> inkubatoriui, šiek tiek atskus dantelių. Galutininis pH turi būti 6,8–7,2.

Išsamnesių šiuo produkto naudojimo gairių kiekviename laboratorijai turi ieškoti savo vidaušo darbo tvarkos taisyklose ir metodiniuose nurodymuose, specialiai parengtuose ir optimizuotuose pagal atskiruos medicininius programas nuostatas.

**„CHANG Medium C“ terpés naudojimas pirminėms lastelių kultūroms: in situ metodai**

1. Centrifuguokite amniono skystį nedideliu greičiu, kad koncentruotumėte lastelės.
2. Resuspenduokite lastelės granule nedideliai kiekvie pacientės amniono skyčio. Pavyzdžiu, siurbkite 10 ml supernatanto iš centrifuguoto amniono skyčio, palikdami 0,5 ml virš lastelės granulės, ir resuspenduokite. Pakankamai kiekj „CHANG Medium C“ terpés įlaikinjai į koncentruotą lastelės suspensiją, kad būtų pasiekta galutinis lėktelės tūris – 0,5 ml vienam dengiamajam stikleliui (iš viso – 4 dengiamieji stikleliai) arba 2 ml vienai flasketei.
3. Kultūras netrukdomai inkubuokite 37 °C temperatūroje 5 % CO<sub>2</sub> atmosferoje.
4. 2-ąja diena apsemkite kultūras, pridėdami 2 ml „CHANG Medium C“ terpés.
5. Po 4–5 dienų kultūras reikia patikrinti, ar auga. Pastebėjus, kad kultūros auga, jas reikia maitinti. Maitinkite kultūras pašalindami visą kultūros paviršinių sluošnį ir pakesiadami terpę į 2 ml šviesi „CHANG Medium C“ terpés. Vėliau rekomenduojama kultūras maitinti kas 2 dienas.

6. 5-ą dieną arba po 5 dienų patikrinkite kultūrų augimą ir aptinkite pakankamai kolonijų lastelės surinkite.
7. Geriausių rezultatų pasiekiamos kultūras maitinant „CHANG Medium C“ terpē, likus dienai iki kultūrų émimo.

**„CHANG Medium C“ terpés naudojimas pirminėms lastelių kultūroms: Kolbos metodologijos**

1. Centrifuguokite amniono skystį nedideliu greičiu, kad koncentruotumėte lastelės.
2. Resuspenduokite lastelės granulę nedideliai kiekvie pacientės amniono skyčio. Pavyzdžiu, siurbkite 10 ml supernatanto iš centrifuguoto amniono skyčio, palikdami 1 ml virš lastelės granulės, ir resuspenduokite. (pilkite 4 ml „CHANG Medium C“ terpē, kad kiekvienoje kolboje būtų po 5 ml).
3. Kultūras netrukdomai inkubuokite 37 °C temperatūroje 5 % CO<sub>2</sub> atmosferoje.
4. 5-ąją dieną patikrinkite augimą. Pakeiskite terpę šviesią „CHANG Medium C“ terpē ir imkite kultūras, jei pastebėjote, kad užauga pakankamai lastelių.
5. Po to kaip antra dieną patikrinkite kultūrų augimą visiškai pakeiskite terpę, kol bus priaugusiu pakankamai kolonijų, kurias galima surinkti.
6. Geriausių rezultatų pasiekiamos kultūras maitinant „CHANG Medium C“ terpē, likus dienai iki kultūrų émimo.

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

**„CHANG Medium C“ terpés naudojimas auginanti perkeltas amniono skyčio lastelių**

Norėdami perkelti lastelės, apdrokite kultūras tripusin (arba pronus ir pan.), kaip įprasta auginant lastelės įprastinėje terpēje. Tačiau proteazės procedūra reikia atidžiai stebėti. „CHANG Medium C“ terpē užaugintos amniono skyčio lastelės yra jautresnės proteazės procedūrai nei amniono skyčio lastelės, užaugintos įprastinėje terpēje. Gali prireikiti pakeisti protokola, kad galėtumėte atsižvelgti į šį faktą.

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

**LAIKYMAS IR STABILUMAS**

„CHANG Medium C“ sušaldytą papildą laikykite žemesneje kaip –10 °C temperatūroje, „CHANG Medium C“ liofilizuotą papildą – 2–8 °C temperatūroje, „CHANG Medium B Basal“ – 2–8 °C temperatūroje, o visą „CHANG Medium C“ – 2–8 °C temperatūroje. „CHANG Medium B Basal“ negalima užsaldyti. Saugoti nuo fluorescencinių spindulių.

Konkrečios galijimo pabaigos datos ieškotek individualių sudedamųjų dujų etiketėse. Visa „CHANG Medium C“ galima laikyti 2–8 °C temperatūroje 10 dienų – per šį laiką jos savybės nepakinta. Nerekomenduojama laikyti ilgiau kaip 10 dienų. NEŠALDYKITE VISOS „CHANG MEDIUM C“.

**ATSARGUMO PRIEMONĖS IR ISPĖJIMAI**

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

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

**KULLANIM ENDİKASYONU**

CHANG Medium C sū ugulamalar için kullanılabılır:

- amniyotik sıvı hücrelerinin primer kültürü
- pasaj yapılmış amniyotik sıvı hücrelerini üretme
- kemik iliği hücrelerinin kültürü
- kordonik virus öneklemeden solid amniyotik doku.

**BÜYÜK HEM AÇIK (%5 CO<sub>2</sub> ATMOSFERİNDE DENGELENMİŞ KÜLTÜRLER) HEM KAPALI (%5 CO<sub>2</sub> DOLDURULMUŞ VE KÜLTÜR KAPAKI SİKICA KAPATILMIŞ OLARAK İNKÜBE EDİLMİŞ KÜLTÜRLER)**  
KÜLTÜR SİSTEMLERİYLE KULLANILMAK ÜZERE TASARLANMIŞTIR.

**CİHAZ TANIMI**

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

**BİLEŞENLER**

Tuzlar ve İyonlar	Proteinler	pH Göstergesi
Sodyum Klorür	Hormonlar ve Bütüne Faktörleri	Fenol kumurizisi Vitaminler ve eser elementler
Sodyum Selenit	Fetal sığır serumu (FSS)	Askorbik asit
Kalsiyum Klorür	Yenidogan sığır serumu	Folik asit
Kolin Klorür	Nicotinamid Riboflavin	Pantotenik asit
Potasium Klorür	Fibroblast büyümeye faktörü (FGF)	Kobalamin
Potasyum Fosfat	İnsan transferini faktörü (IGF)	Piridoksal
Magnezyum Klorür	İnsan transferini faktörü (IGF)	Piridoksin
Magnezyum Sulfat	Fibroblast büyümeye faktörü (FGF)	
Sodyum Fosfat		
Ferröz Sulfat		
Kuprik Sulfat		
Cinko Sulfat		
Tampon	Testosteron	
Sodyum Bikarbonat	Beta estradiol	
Amino Asitler	Hidrokortizon	
Alanin	Su	
Arjinin	Enjeksiyonluk Su Kalitesi	
Asparajin	Düger	
Aspartik Asit	Hipoksantin	
Sistein	Biotin	
Sistin	Putresin	
Glutamik Asit	Etil alkol	
Glutamin	Antikotandan	
Glisin	Tiyotik asit	
Histidin	Nüklear asitler	
Izolozin	Deoksadenozin	
Lösin	Deoksisitidin	
Lizin	Deoksiguanozin	
Metyonin	Adenozin	
Fenilalanın	Sitidin	
Prolin	Guanozin	
Serin	Timidin	
Treonin	Üridin	
Triptofan	Enerji Substratları	
Tirozin	Glukoz	
Valin	Piruvat	
	Inositol	

**KALİTE GÜVENCE****STERİLİTE**

CHANG Medium C üretimeinde kullanılan serum, CFR Başlık 9 Kısım 113.53 uyarınca viral kontaminasyon için test edilmiştir. Ayrıca mikoplazma kontaminasyonu için test edilmiştir. CHANG Medium B Basal ve CHANG Medium C Takviyesi 0,1 mikron bir filtrelenen filtrasyon yoluyla sterilize edilmişdir. CHANG Medium B Basal ve CHANG Medium C Takviye temsili örnekleri mevcut USP sterilité testi <7> içinde tanımlanan sterilité testi protokolü izlenerek olası bakteriyolojik kontaminasyon açısından test edilir.

**KULLANIM HAZIRLIĞI****Liyofilize Takviye**

- CHANG Medium C Liyofilize Takviye ürünününoda sızaklısına dengelenmesini bekleyin.
- Aseptik teknikler kullanarak liyofilizatı 10 mL veya 50 mL steril distile su ekleyin. 10 mL flakon 90 mL CHANG Medium B Basal ürünü içindir; 50 mL flakon 450 mL CHANG Medium B Basal ürünü içindir.
- Tüm solusyonu etkilemek üzere yavaşça çevirin. (NOT: Takviyeyi tamamen çözmem için flakonu 37°C'de 5 - 10 dakika inkübe etmek gerekebilir).
- Sulandırılmış CHANG Medium C Takviye ürününü tü içeriğinin CHANG Medium B Basal şasisi içine aseptik olarak aktarın.

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

**CHANG MEDIUM C TAKVIYE ALIKOTLAMA****Liyofilize Takviye**

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

- CHANG Medium C Liyofilize Takviye ürününü sulandırın.
- Uygun büyülükte alikottora aseptik olarak dağıtın ve dondurun.
- Ayrıca CHANG Medium B Basal ürününü karşılık gelen sayıda alikotta aseptik olarak verin.
- Complete CHANG Medium C hazırlamak için bir alikot çözülmüş CHANG Medium C Takviye ürününü bir alikottor CHANG Medium B Basal ürününde ekleyin.
- İlyce karıştırın.

**Dondurulmuş Takviye**

- CHANG Medium C Dondurulmuş Takviye ürününü çözün.
- Uygun büyülükte alikottora aseptik olarak dağıtın ve tekrar dondurun. (NOT: Takviye flakonu 14 mL veya 70 mL içeri. Eşit olarak dağıtın.)
- Ayrıca CHANG Medium B Basal ürününü karşılık gelen sayıda alikotta aseptik olarak verin.
- Complete CHANG Medium C hazırlamak için bir alikot çözülmüş CHANG Medium C Takviye ürününü bir alikottor CHANG Medium B Basal ürününde ekleyin.
- İlyce karıştırın.

**KULLANIM TALİMATI**

KÜLTÜRLERİ BEŞLEMEK İÇİN KULLANILAN VASATIN pH DEĞERİ 6,8 - 7,2 OLMALIDIR (yani vasat hafif sarımı pembe olmalıdır). pH, vasatı kapağı hafifçe gevşetilmesi olarık bir %5 - %8 CO<sub>2</sub> inkubatöründe koyarak kolaya ayarlanabilir.

Son pH 6,8 - 7,2 olmalıdır.

Bu ürünlerin kullanımına hakkinda ek ayrıntılar açısından her laboratuvar kendi ayrı tıbbi programının özel olarak geliştirilmiş ve optimize edilmiş, kendi laboratuvar işlerini ve protokollerine başvurmalıdır.

**Primer Kültürler İçin CHANG Medium C Kullanımı: In Situ Metodolojiler**

- Hücreleri konsantr etmek için amniyotik sıvı düşük hızda santrifüjleyin.
- Hücre pelletini hastanın kendi amniyotik sıvısının küçük bir miktarında tekrar süspansiyon haline getirin. Örneğin santrifüjenmiş 10 mL amniyotik sıvının süpernatansını hücre pelletinin 0,5 mL üzerine kadar aspire edin ve tekrar süspansiyon haline getirin. Konsantr hücre süspansiyonuna lamel başına 0,5 mL (toplam 4 lamel) veya flasket başına 2 mL olacak şekilde son plakalama hacmini mümkün kılmak üzere tıbbi CHANG Medium C ekleyin.
- Kültürleri ellemeden 37°C %5 CO<sub>2</sub> atmosferi altında inkübe edin.
- Kültürleri gün 2'de 2 mL CHANG Medium C ekleyerek tamamen sıvıyla örtün.
- Kültürlerin 4 - 5 günden sonra üreme açısından kontrol edilmesi gereklidir. Kültürler üreme gözlemlendikten sonra beslenmelidir. Kültürleri tüm kültür süpernatansını alıp yerine 2 mL yeni CHANG Medium C koymak besleyin. Bundan sonra kültürleri 2 günde bir beslenmesi önerilir.
- Kültürleri 5. günde veya sonrasında üreme için kontrol edin ve yeterli koloni gözlemlenece toplayın.
- En iyi sonuçlar kültürlerin toplama öncesi içinde CHANG Medium C ile beslenmesiyle alınır.

**Primer Kültürler İçin CHANG Medium C Kullanımı: Flask Metodolojileri**

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

**SLOVENČINA****INDIKÁCIA NA POUŽITIE**

CHANG Medium C možno použiť na nasledujúce aplikácie:

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

**TOTO MÉDUM BOLO NAVRHUTÉ NA POUŽITIE V OTVORENÝCH (KULTÚRACH USTÁLENÝCH S ATMOSFÉROU 5 % CO<sub>2</sub>) AJ ZATVORENÝCH KULTIVÁČNÝCH SYSTÉMOCH (KULTÚRACH ZALIAŤYCH 5 % CO<sub>2</sub> A INKUBOVANÝCH S TESNE UZAVRETÝMI KULTIVÁČNÝMI NÁDOBAMI).**
**POPIŠ ZARIADENIA**

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

**ZLOŽKY**

Soli a ióny	Bielkoviny, homórgy	Indikátor pH
sodný selenitan sodný	a rastové faktory	fenolová červeň
chlorid váněnatý	fetálne bovinné sérum (FBS)	Vitaminy a stopové prvky
cholin váněnatý	neonatálne bovinné sérum	neonatálne bovinné sérum
chlorid draselný	lúdsky transferín	kyseľina askorbová
fosforečný	fibroblastový rastový faktor (FGF)	kyseľina listová
chlorid horečnatý	insulin	nikotinamid
síran horečnatý	progesterón	riboflavín
síran horečnatý	testosterón	tiamin
síran železnatý	beta estradiol	kyseľina pantoténová
síran zincénatý	hydrokortizon	kovalentná bunka
Pufe	voda	pyridoxal
hydrogenuhičitan sodný	qualita vody na injekciu	pyridoxin
Aminokyseliny	injektia	
alanín	hypoxantin	
arginín	biotín	
asparagín	putrescín	
asparagín	etylalkohol	
kyseľina asparágová	Antioxidant	
cystein	cystein	
kyseľina glutámová	kyseľina tioktová	
glutamín	deoxyadenozín	
histidin	deoxycytidín	
izoleucín	deoxyguanozin	
leucín	adenozín	
lyzin	cytidín	
metionin	guanozin	
fenylalanin	timidín	
prolin	uridín	
serin	Energetické substráty	
treonin	glukóza	
tryptofan	pyruvat	
tyrozin	inositol	
valin		

**KONTROLA KVALITY****STERILITA**

Sérum použité pri výrobe CHANG Medium C Supplement bolo testované na vírusovú kontamináciu podľa CFR, kapitolu 9, časti 113.53. Podstúpilo tiež skríning na mykoplasmatickú kontamináciu. CHANG Medium B Basal aj CHANG Medium C Supplement sú sterilizované filtriaciou cez 0,1-mikrónový filter. Reprezentatívne vzorky CHANG Medium B Basal aj CHANG Medium C Supplement sú testované na možnú bakteriologickú kontamináciu podľa protokolu na testovanie sterility popísaneho v aktuálnom teste sterility USP<7>.

**PRÍPRAVA NA POUŽITIE**

- Liyofilizovaný doplnok**
1. Liyofilizovaný doplnok CHANG Medium C nechajte vytvoriť v akcie.
  2. Pomocou aseptických techník pridať 10 mL alebo 50 mL sterilnej destilovanej vody do liyofilizátu. 10 mL skúmavka je na 90 mL CHANG Medium B Basal, 50 mL skúmavka je na 450 mL CHANG Medium B Basal.
  3. Skúmavku jemne zavŕte, aby sa vytvoril kompletný roztok. (POZNÁMKA: Je možné, že skúmavku bude potrebné inkubovať pri teplote 37 °C 5 až 10 minút, aby sa doplnok úplne rozpustil.)

4. Celý obsah rekonštituovaného CHANG Medium C Supplement asepticky preneste do fľaše s CHANG Medium B Basal.
5. Kompletne CHANG Medium C dobre pomiešajte virením fľaše.
6. Rast na kultúrach skontroluje okolo 5. dňa a vykonajte zber, keď spozorujete dostatočné kolónie.
7. Najlepšie výsledky sa dosiahnu, keď sú kultúry prizvane CHANG Medium C deň pred zberom.

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

1. Plodovú vodu odstreďte pri nízkej rýchlosťi, aby sa koncentrovali bunky.
2. Bunkovú peletu resuspendujte v malom objeme plodovej vody pacientky. Napríklad aspirujte supernatant 10 ml odstreďenej plodovej vody na 1 ml nad bunkovú peletu a resuspendujte. Pridať 4 mL CHANG Medium C na konečný objem 5 ml na flášičku.
3. Nerusené kultúry inkubujte pri teplote 37 °C v atmosfére 5 % CO<sub>2</sub>.
4. Skontrolujte rast na kultúrach a potom kompletne vymieňajte médium každý druhý deň dovtedy, kým nepozorujete dostatočné kolónie a nie sú pripravené na zber.
5. Skontrolujte rast na kultúrach a potom kompletne vymieňajte médium každý druhý deň dovtedy, kým nepozorujete dostatočné kolónie a nie sú pripravené na zber.
6. Najlepšie výsledky sa dosiahnu, keď sú kultúry prizvane CHANG Medium C deň pred zberom.

**POZNÁMKA:** Pri zatvorených systémoch vypláchnite každú flášičku na kultúru 5 % CO<sub>2</sub> – 95 % vzduchom 20 sekund. Utiahnite vrchnák na flášičkách s kultúrou a inkubujte ich pri teplote 37 °C. (Odpôrúca sa, aby bola k zdroju CO<sub>2</sub> pripojená sterilná zazátkovaná Pasteurova pipeta, aby sa zaistila sterilita prívodu plynu.)

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

Na pasážované buniek otestujte kultúry trypsinom (alebo pronázou atd.) ako obvykle, keď sa bunky pestujú v konvenčnom médiu. Ošetroenie pranou váske treba pozorne sledovať. Bunky plodovej vody pestované v CHANG Medium C sú zvyčajne citlivejšie na ošetroenie pronázou, alebo bunky plodovej vody pestované v konvenčnom médiu. Preto môže byť potrebné upraviť váske protokol a vziať to do úvahy.

**Poznámka:** Po rozmrázení sa v CHANG Medium C môže vytvoriť bielkovinová zrazenina. O tejto bielkovinovej zrazenine nie je známe, že by mala vplyv na výkon produktu.

**UCHOVÁVANIE A STABILITA**

Zmrázenej doplnok CHANG Medium C uchovávajte pri teplote pod -10 °C, liyofilizovaný doplnok CHANG Medium C pri teplote 2 °C až 8 °C, CHANG Medium B Basal pri teplote 2 °C až 8 °C, a kompletne CHANG Medium C pri teplote 2 °C až 8 °C. CHANG Medium B Basal nesmie zmrázovať.

Chráňte pred fluorescenčným svetlom.

Specifické dátumy expiracie nájdete na označeniacich jednotlivých fláš komponentov. Kompletne CHANG Medium C možno uchovávať pri teplote 2 °C až 8 °C 10 dní pred použitím bez ovplyvnenia jeho funkcie.

UCHOPLENÉ CHANG MEDIUM C NEZMRAZUJTE.

**BEZPECNOSTNÉ OPATRENIA A VAROVANIA**

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

Komponenty CHANG Medium C nepoužívajte po dátume expiracie uvedenom na jednotlivých označeniacach.

## БЪЛГАРСКИ

### ПОКАЗАНИЯ ЗА УПОТРЕБА

CHANG Medium C може да се използва за следните приложения:

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

### ОПИСАНИЕ НА ИЗДЕЛИЕТО

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

### КОМПОНЕНТИ

Соли и иони	Протеини, хормони и растежни фактори	Енергийни субстрати
Натриев хлорид		Глюкоза
Натриев селеният		Пиуруват
Калиев хлорид	Фетален говеждя serum (FBS)	Нинозиптол pH индикатор
Холин хлорид	Говежди serum на новородено	Фенол, червен
Калиев хлорид	Човешки	Витамиини и микрлементи
Калиев фосфат	трансферин	Аскорбинова киселина
Магнезиев хлорид	Фибробластен растежен фактор (FGF)	Фолиева киселина
Магнезиев сулфат	Инсулин	Никотинамид
Натриев фосфат	Прогестерон	Рибофлавин
Натриев хлорид	Тестостерон	Тиамин
Железен сулфат	Бета естрадиол	Пантотенова киселина
Меден сулфат	Хидрокортизон	Кобаламин
Цинков сулфат	Вода	Пиридоксал
Буфер	Качество – вода за инжектиране	Пиридоксин
Натриев бикарбонат	Други	
Аминокиселини	Хипоксантин	
Аланин	Биотин	
Аргинин	Лутрецин	
Аспарагин	Етилов алкохол	
Аспарагинова киселина	Антиоксидант	
Цистеин	Тиоктова киселина	
Цистин	Нуклеинови киселини	
Глутаминова киселина	Дезоксиаденозин	
Глутамин	Дезоксицитидин	
Хистидин	Дезоксиуридин	
Изолецин		
Лизин		
Метионин		
Фенилаланин		
Пролин		
Серин		
Треонин		
Триптофан		
Тирозин		
Валин		

### КОНТРОЛ НА КАЧЕСТВОТО

#### СТЕРИЛНОСТ

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

#### ПОДГОТОВКА ЗА УПОТРЕБА

##### Лиофилизиран суплемент

1. Оставете лиофилизиран суплемент CHANG Medium C да се евклибира на стапна температура.
2. Чрез асептичен метод добавете 10 ml или 50 ml стерилна дестилирана вода към лиофилизиата.

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

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

##### Замразен суплемент

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

#### АЛИКВОТИРАНЕ НА CHANG MEDIUM C SUPPLEMENT

##### Лиофилизиран суплемент

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

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

##### Замразен суплемент

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

##### УКАЗАНИЯ ЗА УПОТРЕБА

НИВОТО на pH на СРЕДАТА, ИЗПОЛЗВАНА ЗА ХРАНЕНИЕ НА КУЛТУРИТЕ, ТРЯБВА ДА Е МЕЖДУ 6.8 и 7.2 (т.е. средата трябва да е с леко жълтенников-розово-оранжев цвят). Ниво на pH може лесно да се регулира чрез поставяне на средата в 5% – 8% CO<sub>2</sub> инкубатор с леко разлабена капачка.

Окончателното pH ниво трябва да е 6.8 – 7.2.

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

#### Използване на CHANG Medium C за първични култури: Методология in situ

1. Центрофугирайте амниотичната течност при ниска скорост, за да концентрирате клетките.
2. Ресуспендирайте пелетата от клетки в малък обем амниотична течност от самия пациент.

Например аспирирайте супернатанта на 10 ml центрофугирана амниотична течност до 0,5 ml над пелетата от клетки и ресуспендирайте. Добавете достатъчно CHANG Medium C към концентрираната супензия на клетки, за да остане окочувателен обем за нанасяне от 0,5 ml на покривно стъкло (общо 4 покривни стъклa) или 2 ml на слайд-флакон.

3. Инкубирате културите в покой при 37° C, 5% CO<sub>2</sub> атмосфера.

4. В ден 2 запейте културите, като добавите 2 ml CHANG Medium C.

5. След 4 до 5 дни културите трябва да бъдат проверени за растеж. След като бъде установен растеж, културите трябва да се захранват. Хранете културите, като отстранявате целия супернатант на културата и го заменяте с 2 ml прясна CHANG Medium C. Препоръчва се културите да се захранват на всеки 2 дни след това.

6. Проверете културите за растеж във или след ден 5 и съберете, когато се наблюдават достатъчно колонии.

7. Най-добри резултати се постигат, когато културите се захранват с CHANG Medium C в деня преди събирането.

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

1. Центрофугирайте амниотична течност при ниска скорост, за да концентрирате клетките.

2. Ресуспендирайте пелетата от клетки в малък обем амниотична течност от самия пациент. Например аспирирайте супернатанта на 10 ml центрофугирана амниотична течност до 1 ml над пелетата от клетки и ресуспендирайте. Добавете 4 ml CHANG Medium C за общ обем от 5 ml на слайд-флакон.

3. Инкубирате културите в покой при 37° C, 5% CO<sub>2</sub> атмосфера.

4. Проверете за растеж в ден 5. Сменете средата с прясна CHANG Medium C и съберете, ако се наблюдава достатъчен растеж на клетките.

5. Проверявайте културите за растеж и сменяйте изцяло средата на всеки втори ден след това, докато се установят достатъчно колонии и са готови за събиране.

6. Най-добри резултати се постигат, когато културите се захранват с CHANG Medium C в деня преди събирането.

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

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

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

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

### СЪХРАНЕНИЕ И СТАБИЛНОСТ

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

Пазете от флуоресцентна светлина.

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

НЕ ЗАРАМЯВЯЙТЕ ПЪЛНАТА СРЕДА CHANG MEDIUM C.

### ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ И ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

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

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



## SLOVENŠČINA

### INDIKACIJE ZA UPORABO

Medij CHANG Medium C se lahko uporablja za naslednje aplikacije:

- primarna kultura celic amnijske tekočine,
- gojene pasazirane celice amnijske tekočine,
- kultura celic kostnega mozga,
- trdno amnijsko tkivo iz vzorcev horionskih resic.

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

### OPIS PRIPOMOČKA

Medij CHANG Medium C je razvit za primarno kulturo amnijskih celic amnijske tekočine za uporabo pri določanju kariotipov in drugih antentalnih genskih testov. TA FORMULA JE OPTIMIZIRANA ZA ODPRTE IN ZAPRTE SISTEME.

### KOMPONENTE

Soli in ioni	Beljakovine	Indikator vrednosti pH
Natrijev klorid	hormoni in rastni faktori	Fenol redce
Natrijev selenit	Serum govejega zarodka (FBS)	Vitaminini elementi v sledovih
Kalcijev klorid	Serum	Askorbinska kislina
Kalijev klorid	novorojenčna teleta	Folna kislina
Kalijev fosfat	Humani transferini	Nikolinamid
Magniezijev klorid	Fibroblastni rastni faktor (FGF)	Riboflavin
Magnezijev sulfat	Inzulini	Tiamin
Natrijev fosfat	Progesteron	Pantotserska kislina
Železov sulfat	Testosteron	Kobalamin
Bakov sulfat	Beta-estradiol	Piridoksal
Cinkov sulfat	Hidrokortizon	Piridoksin
Pufér	Voda	
Natrijev bikarbonat	Kakovost, ki ustreza vodi za injekcije	
Aminokisline	Druge	
Alanin	Glutaminska kislina	Etilni alkohol
Arginin	Glutamin	Antioksidant
Asparagin	Glicin	Tiokarbikislina
Asparaginska kislina	Histidin	Nukleinske kisline
Cistein	Isoleucin	Deoksadenozin
Cistin	Lecvincin	Deoksicitidin
Glutaminska kislina	Lizin	Deoksiguanozin
Glutamin	Metionin	Adenozin
Glicin	Fenilalanin	Citidin
Histidin	Prolin	Gvanozin
Isoleucin	Serin	Timidin
Lecvincin	Treonin	Uridin
Lizin	Triptofan	Energijski substrati
Metionin	Tirozin	Glukoza
Fenilalanin	Valin	Piruvat
Prolin		Inozitol

### ZAGOTAVLJANJE KAKOVOSTI

#### STERILNOST

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

### PRIPRAVA ZA UPORABO

#### Liofiliziran dodatak

- Počakajte, da medij CHANG Medium C liofiliziran dodatak dosegne sobno temperatu.
- Z aseptično tehniko liofilizirano dodajte 10 ml ali 50 ml sterilne destilirane vode. 10 ml viala je za 90 ml medija CHANG Medium B Basal; 50 ml viala je za 450 ml medija CHANG Medium B Basal.
- Vialo nežno sukjajte, da se vsebina popolnoma raztopi. (OPOMBA: Morda bo treba vialo inkubirati pri 37 °C od 5 do 10 minut, da se dodatak popolnoma raztopi).

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

#### Zamrznjen dodatak

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

### ALIKVOTIRANJE MEDJA CHANG

#### MEDIUM C SUPPLEMENT

#### Liofiliziran dodatak

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

- Rekonstituirajte medij CHANG Medium C liofiliziran dodatek.
- Aseptično ga porazdelite na alikvote primerne velikosti in zamrznite.
- Tudi medij CHANG Medium B Basal aseptično razdelite na ustrezno število alikvot.
- Celovit medij CHANG Medium C pripravite tako, da en alikvot odtaljenega medija CHANG Medium C Supplement dodata enemu alikvotu medija CHANG Medium B Basal.
- Dobro premesejte.

#### Zamrznjen dodatak

- Odtalte medij CHANG Medium C zamrznjen dodatek.
- Z aseptično tehniko ga porazdelite na alikvote primerne velikosti in ponovno zamrznite. (OPOMBA: Viala z dodatkom vsebuje 14 ml ali 70 ml. Vsebino enakomerno porazdelite.)
- Tudi medij CHANG Medium B Basal aseptično razdelite na ustrezno število alikvot.
- Celovit medij CHANG Medium C pripravite tako, da en alikvot odtaljenega medija CHANG Medium C Supplement dodata enemu alikvotu medija CHANG Medium B Basal.
- Dobro premesejte.

### NAVODILA ZA UPORABO

VREDNOST pH MEDJA, KI SE UPORABLJA ZA HRANJENJE KULTUR, MORA BITI MED 6,8 IN 7,2 (tj. medij mora biti rahlo rumenkastne barve lososa). Vrednost pH zlahka prilagodite tako, da medij postavitev v inkubator s 5–8 % CO<sub>2</sub> (pokrovček naj bo nekoliko priprt).

Končni pH mora biti 6,8–7,2.

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

#### Uporaba medja CHANG Medium C 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 suspendirajte. V koncentrirano celično suspenzijo dodajte dovolj medija CHANG Medium C, da dobite končni volumen za prelevko krovnih stekel 0,5 ml na stekelce (skupaj 4 krovna stekelka) ali 2 ml na stekleničko.
- Nato se morajo kulture nemoteno inkubirati v atmosferi s 5 % CO<sub>2</sub> pri 37 °C.
2. dan kulture zalijte z 2 ml medija CHANG Medium C.

- Po 4 do 5 dneh preverite, ali kulture rastejo. Ko opazite rast, morate kulture nahraniti. Kulture nahranite tako, da odstranite ves supernatant kulture in ga nadomestite z 2 ml svežega medija CHANG Medium C. Priporočljivo je, da v nadaljevanju kulture nahranite vsaka 2 dni.
- Na 5. dan ali po 5. dnevu preverite, koliko so kulture zrasle, in jih spravite, ko opazite dovolj kolonij.
- Rezultat bo najboljši, če kulture nahranite z medijem CHANG Medium C in dan, preden jih spravite.

#### Uporaba medja CHANG Medium C za primarne kulture: Metodologije z bučkami

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

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

#### Uporaba medja CHANG Medium C za gojene pasazirane celice amnijske tekočine:

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

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

#### SHRANJEVANJE IN STABILNOST

Medij CHANG Medium C zamrznjen dodatek shranjuje pri temperaturi pod -10 °C, CHANG Medium C liofiliziran dodatek pri temperaturi med 2 in 8 °C, CHANG Medium B Basal pri temperaturi med 2 in 8 °C ter celovit medij CHANG Medium C pri temperaturi med 2 in 8 °C. Medij CHANG Medium B Basal se ne sme zamrzniti.

Zaščitite pred fluorescenčno svetlobo.

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

CELOVITEGA MEDJA CHANG MEDIUM C NE SMETE ZAMRZNITI.

#### PREDVIDNOSTNI UKREPI IN OPORIZILA

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

Komponent medija CHANG Medium C ne smete uporabljati po izteku rokov uporabnosti, navedenih na posameznih nalepkah.