

CHANG Medium *In Situ*

For Human Amniotic Fluid Cells

Catalog No. T104

For *in vitro* diagnostic use.

Zur *In-vitro-Diagnostik*.

Solo per uso diagnostico *in vitro*.

Para uso diagnóstico *in vitro*.

Pour diagnostics *in vitro*.

Para utilização em diagnóstico *in vitro*.

Για *in vitro* διαγνωστική χρήση.

Pro diagnostické použití *in vitro*.

Til *in vitro*-diagnostik.

In vitro -diagnostikaan.

Lietošanai *in vitro* diagnostikā.

Uitsluitend voor *in vitro* diagnostisch gebruik.

Do diagnostyki *in vitro*.

Pentru uz diagnostic *in vitro*.

Für *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.

Għal użu dijanjostiku *in vitro*.

Za diagnostično uporabo *in vitro*.

Glossary of Symbols*:



Catalog Number



Lot Number



Sterilized using aseptic processing techniques (filtration)



Expiration:
Year - Month - Day



Caution, consult accompanying documents



Consult instructions for use



Storage Temperature
below -10°C



Do not resterilize



Do not use if package is damaged



Manufacturer



CE Mark

Emergo Europe - Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

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

ENGLISH

INDICATION FOR USE

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

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

This medium has been designed for use in CO₂ incubators (cultures equilibrated with 5%-8% CO₂ atmosphere).

DEVICE DESCRIPTION

CHANG Medium *In Situ* was developed for the primary culture of human amniotic fluid cells for use in karyotyping and other antenatal genetic testing. This formula has been optimized for *In Situ* methodologies.

COMPONENTS

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

QUALITY ASSURANCE

STERILITY

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

PREPARATION FOR USE

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

ALIQUOTING CHANG MEDIUM *In Situ*

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

DIRECTIONS FOR USE

The pH of the medium used to feed the cultures must be between 6.8–7.2 (i.e. the medium must be slightly yellowish salmon color). pH can easily be adjusted by placing the medium in a 5%-8% CO₂ incubator with the cap slightly loosened for about 30 minutes.

The final pH must be 6.8–7.2.

Use of CHANG Medium *In Situ* for Primary Cultures: in situ Methodologies

- Centrifuge amniotic fluid at low speed to concentrate the cells.
- Resuspend the cell pellet in a small volume of the patient's own amniotic fluid. For example, aspirate the supernate of 10 mL of spun amniotic fluid to 0.5 mL above the cell pellet and resuspend. Add sufficient CHANG Medium *In Situ* to the concentrated cell suspension to allow for final plating volume of 0.5 mL per cover slip (total of 4 coverslips) or 2 mL per flaskette.
- Incubate cultures undisturbed at 37°C 5%-8% CO₂ atmosphere.
- Flood cultures on day 2 by adding 2 mL of CHANG Medium *In Situ*.
- After 4 to 5 days, the cultures should be checked for growth. Cultures should be fed once growth has been observed. Feed cultures by removing all of the culture supernatant and replacing with 2 mL fresh CHANG Medium *In Situ*. It is recommended that cultures be fed every 2 days thereafter.
- Check cultures for growth on/or after day 5, and harvest when sufficient colonies are observed.
- Best results are obtained when the cultures are fed with CHANG Medium *In Situ* the day before the harvest.

Use of CHANG Medium *In Situ* for Growing Passaged Amniotic Fluid Cells:

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

Note: CHANG Medium *In Situ* may develop some Calcium Oxalate and protein precipitates upon thawing. These precipitates are not known to have an effect on product performance.

STORAGE AND STABILITY

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

Protect from fluorescent light.

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

PRECAUTIONS AND WARNINGS

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

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

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



FUJIFILM Irvine Scientific, Inc.

2511 Daimler Street, Santa Ana, California 92705 USA

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

© 2024 FUJIFILM Irvine Scientific, Inc. All rights reserved. The FUJIFILM Irvine Scientific logo and CHANG Medium are trademarks of FUJIFILM Irvine Scientific, Inc. in various jurisdictions.

PN 40280 Rev. 10

Effective Date: 27-DEC-2024

DEUTSCH

INDIKATIONEN

CHANG Medium *In Situ* kann für die folgenden Anwendungen verwendet werden:

1. Primärkultur von Fruchtwasserzellen
2. Wachsende passagierte Fruchtwasserzellen
3. Festes Amniongewebe aus einer Chorionzottenbiopsie

Dieses Medium wurde für die Verwendung in CO_2 -Incubatoren entwickelt (Kulturen, die mit 5-8%iger CO_2 -Atmosphäre äquilibriert werden).

PRODUKTBESCHREIBUNG

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

INHALTSSTOFFE

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

QUALITÄTSSICHERUNG

STERILITÄT

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

VORBEREITUNG

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

ALIQUOTIEREN DES CHANG MEDIUM *In Situ*

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

GE BRAUCHSANWEISUNG

Der pH-Wert des Mediums, das als Nährmedium der Kulturen dient, muss zwischen 6,8 und 7,2 liegen (d.h. das Medium muss leicht gelblich-lachsfarben sein). Der pH-Wert kann leicht angepasst werden, indem das Medium für ungefähr 30 Minuten in einen 5-8%igen CO_2 -Incubator mit leicht gelöster Kappe gestellt wird.

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

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

1. Das Fruchtwasser bei geringer Geschwindigkeit zentrifugieren, um die Zellen zu konzentrieren.
2. Das Zellpellet in einer kleinen Menge Fruchtwasser derselben Patientin resuspendieren. Beispielsweise den Überstand von 10 ml des zentrifugierten Fruchtwassers zu 0,5 ml über dem Zellpellet absaugen und resuspendieren. Ausreichend CHANG Medium *In Situ* in die konzentrierte Zellsuspension geben, um das endgültige Überzugsvolumen von 0,5 ml pro Deckglas (insgesamt 4 Deckgläser) oder 2 ml pro Fläschchen zu erreichen.
3. Die Kulturen ungestört bei 37 °C in einer 5-8%igen CO_2 -Atmosphäre inkubieren.
4. Die Kulturen an Tag 2 überspülen, indem 2 ml CHANG Medium *In Situ* zugegeben werden.
5. Nach 4 bis 5 Tagen sollten die Kulturen auf Wachstum überprüft werden. Die Kulturen sollten genährt werden, sobald ein Wachstum festgestellt wurde. Die Kulturen nähren, indem Kulturerstand entfernt wird und stattdessen 2 ml frisches CHANG Medium *In Situ* zugegeben werden. Es wird empfohlen, dass Kulturen danach alle 2 Tage genährt werden.
6. An/oder nach Tag 5 die Kulturen auf Wachstum prüfen und entnehmen, wenn ausreichend Kolonien vorhanden sind.
7. Die besten Ergebnisse werden erreicht, wenn die Kulturen am Tag vor der Entnahme mit CHANG Medium *In Situ* genährt werden.

Verwendung von CHANG Medium *In Situ* für wachsende passagierte Fruchtwasserzellen:

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

Einweisung: Nach dem Auftauen können sich in CHANG Medium *In Situ* Calciumoxalat- und Protein niederschläge bilden. Es ist nicht bekannt, dass diese Niederschläge die Produktleistung beeinflussen.

LAGERUNG UND STABILITÄT

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

Keinem Fluoreszenzlicht aussetzen.

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

VORSICHTSMASSNAHMEN UND WARNSHINWEISE

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

Keine Flaschen verwenden, deren Sterilverpackung beschädigt wurde.

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

ITALIANO

INDICAZIONI PER L'USO

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

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

Questo terreno può essere usato in incubatori con CO_2 (colture equilibrate con atmosfera al 5-8% di CO_2).

DESCRIZIONE DEL DISPOSITIVO

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

COMPONENTI

| Aminoacidi | Indicatore di pH |
|--------------------------------|---------------------------------------|
| Alanina | Rosso fenolo |
| Arginina | Sali eioni |
| Asparagina | Cloruro di sodio |
| Acido aspartico | Cloruro di potassio |
| Cisteina | Fosfato di sodio |
| Acido glutammico | Cloruro di calcio |
| Glutamina | Solfato di magnesio |
| Glicina | Cloruro di colina |
| Istidina | Cloruro di magnesio |
| Isoleucina | Selenito di sodio |
| Leucina | Solfato di rame |
| Lisina | Solfato di ferro |
| Metionina | Solfato di zinco |
| Fenilalanina | Proteine ormoni e fattori di crescita |
| Prolina | Siero bovino fetale |
| Serina | Siero bovino neonatale |
| Treonina | Fattore di crescita dei fibroblasti |
| Triptofano | Trasferrina |
| Tirosina | Insulina |
| Valina | Progesterone |
| Tampone | Testosterone |
| Bicarbonato di sodio | B-estradiolo |
| Vitamine ed elementi in tracce | Idrocortisone |
| Biotina | Acidi nucleici |
| Riboflavina | Citidina |
| Acido ascorbico | Deossiadenosina |
| Acido flico | Deossicitidina |
| Acido nicotinico | Deosiguanosina |
| Acido pantotenico | Timidina |
| Piridossale | Uridina |
| Piridossina | Adenosina |
| Tiamina | Ipoxantina |
| Vitamina B12 | Antiossidante |
| Substrati energetici | Glucosio |
| | Inositol |
| | Piruvato |

GARANZIA DI QUALITÀ

STERILITÀ

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

PREPARAZIONE PER L'USO

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

SUDDIVISIONE DI CHANG MEDIUM *In Situ*

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

ISTRUZIONI PER L'USO

Il pH del terreno usato per arricchire le colture deve essere compreso fra 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_2 al 5-8% con il tappo leggermente svitato per circa 30 minuti.

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

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

1. Centrifugare il liquido amniotico a bassa velocità per concentrare le cellule.
2. Risospndere il pellet cellulare in una piccola quantità di liquido amniotico della paziente. Ad esempio, aspirare il surattante di 10 ml di liquido amniotico centrifugato fino a 0,5 ml sopra il pellet cellulare e risospndere. Aggiungere alla sospensione di cellule concentrata una quantità di CHANG Medium *In Situ* sufficiente a ottenere un volume finale nella piastra di 0,5 ml per vetrino coprioggetti (totale di 4 vetrini coprioggetti) o 2 ml per minifiasca.
3. Incubare le colture indisturbate a 37 °C in atmosfera al 5-8% di CO_2 .
4. Al giorno 2 aggiungere alle colture 2 ml di CHANG Medium *In Situ*.
5. Dopo 4-5 giorni, verificare la crescita delle colture e arricchirle non appena si osserva una crescita. Arricchire le colture rimuovendo tutto il surattante e sostituendolo con 2 ml di CHANG Medium fresco *in situ*. Successivamente, si raccomanda di arricchire le colture ogni 2 giorni.
6. Controllare la crescita delle colture a partire dal giorno 5 e raccogliere quando si osservano sufficienti colonie.
7. I risultati migliori si ottengono quando le colture sono arricchite con CHANG Medium *In Situ* il giorno prima della raccolta.

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

Per eseguire colture cellulari secondarie, trattare con tripsina (o pronase ecc.) come nel caso di cellule in coltura in terreno convenzionale. In ogni caso, il trattamento con proteasi deve essere monitorato accuratamente. Le cellule di liquido amniotico coltivate in CHANG Medium *In Situ* sono generalmente più sensibili al trattamento con proteasi di quelle coltivate in terreno convenzionale. In ragione di ciò, potrebbe essere necessario modificare il protocollo.

NOTA – Nella fase di scongelamento di CHANG Medium *In Situ* si possono formare alcuni precipitati proteici e di ossalato di calcio, che non hanno alcun effetto noto sulle prestazioni del prodotto.

CONSERVAZIONE E STABILITÀ

Conservare CHANG Medium *In Situ* congelato a -10°C. Il prodotto non utilizzato può essere ricongelato o conservato a 2-8 °C.

Proteggere da luce fluorescente.

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

PRECAUZIONI E AVVERTENZE

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

Non usare flaconi la cui confezione sterile sia stata compromessa.

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

ESPAÑOL

INDICACIÓN DE USO

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

- cultivo primario de células de líquido amniótico,
- expansión de células de líquido amniótico subcultivadas,
- tejido amniótico sólido (muestreo de vellosidades coriónicas).

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

DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO

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

COMPONENTES

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

GARANTÍA DE CALIDAD

ESTERILIDAD

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

PREPARACIÓN PARA EL USO

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

Proteger de la luz fluorescente.

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

DIVIDIR EN ALÍCUOTAS EL CHANG MEDIUM *IN SITU*

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

INSTRUCCIONES DE USO

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

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

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

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

Uso del CHANG Medium *In Situ* para la expansión de células de líquido amniótico subcultivadas:

Para subcultivar las células, tratar los cultivos con trypsina (o pronasa, etc.) como lo haría si las células crecieran en un medio convencional. De cualquier manera, el tratamiento con proteasa debe vigilarse con cuidado. Las células de líquido amniótico expandidas en el CHANG Medium *In Situ* tienden a ser más sensibles al tratamiento con proteasa que las células de líquido amniótico cultivadas en un medio convencional. Es posible que deba modificar el protocolo por esta razón.

Nota: Al descongelar el CHANG Medium *In Situ* puede formarse oxalato de calcio y precipitado proteico. Este precipitado no tiene ningún efecto conocido en el rendimiento del producto.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

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

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

PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

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

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

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

FRANÇAIS

PRÉPARATION D'ALIQUOTES DE CHANG MEDIUM *IN SITU*

- Descongelar CHANG Medium *In Situ* conforme a las instrucciones.
- Repartir estérilmente en varias aliquotas de tamaño apropiado y conservar a temperatura ambiente.
- Descongelar las aliquotas en un baño marie a 37 °C cuando estén listas para su uso.

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

DESCRIPTION DU DISPOSITIF

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

COMPOSANTS

| Acides aminés | Sels et ions |
|-----------------------------|---|
| Alanine | Chlorure de sodium |
| Arginine | Chlorure de potassium |
| Asparagine | Phosphate de sodium |
| Acide aspartique | Phosphate de potassium |
| Cystéine | Chlorure de calcium |
| Cystine | Sulfate de magnésium |
| Acide glutamique | Chlorure de choline |
| Glutamine | Chlorure de magnésium |
| Glycine | Sélénite de sodium |
| Histidine | Sulfate de cuivre |
| Isoleucine | Sulfate de fer |
| Leucine | Sulfate de zinc |
| Lysine | Protéines, hormones et facteurs de croissance |
| Méthionine | Sérum de veau fotal |
| Phénylalanine | Sérum de veau naissant |
| Proline | Facteur de croissance des fibroblastes |
| Sérine | Transferrine |
| Thréonine | Insuline |
| Tryptophane | Progéstérone |
| Tyrosine | Testostérone |
| Valine | Béta-estradiol |
| Tampon | Hydrocortisone |
| Bicarbonate de sodium | Acides nucléiques |
| Vitamines et oligo-éléments | Cytidine |
| Biotine | Désoxyadénosine |
| Riboflavine | Désoxyuridine |
| Acide ascorbique | Désoxycytidine |
| Acide folique | Désoxyguanosine |
| Acide nicotinique | Guanosine |
| Acide pantothénique | Thymidine |
| Pyridoxal | Uridine |
| Pyridoxine | Adénosine |
| Thiamine | Hypoxanthine |
| Vitamine B12 | Antioxydant |
| Substrats énergétiques | Acide thioclique |
| Glucose | Autres |
| Inositol | Alcool éthylique |
| Pyruvate | Putrescine |
| Indicateur de pH | Rouge de phénol |

ASSURANCE QUALITÉ

STÉRILITÉ

Le sérum utilizado en la fabricación de CHANG Medium *In Situ* a sido testeado para las contaminaciones virales según el código de regulaciones federales CFR Title 9 Part 113.53. Il a été aussi teste pour les contaminations par mycoplasma. CHANG Medium *In Situ* es estérilizado por filtración con un filtro de 0,1 µm. Des échantillons de CHANG Medium *In Situ* son testados para una eventual contaminación bacteriana según el protocolo de test de esterilidad descrito en el test de esterilidad común de la farmacopea americana (USP) <71>.

PRÉPARATION

- Descongelar rápidamente CHANG Medium *In Situ* en agitando el frasco en un baño marie a 37 °C.
- Des antibiotiques peuvent également être ajoutés, le cas échéant.

PRÉCAUTIONS ET MISES EN GARDE

PRÉPARATION

IN SITU

CONTENIDO

ESTERILIDAD

CONSERVACIÓN

TIEMPO DE VIDA

TIEMPO DE CONGELACIÓN

TIEMPO DE DESCONGELACIÓN

TIEMPO DE ALMACENAMIENTO

TIEMPO DE USO

TIEMPO DE CONSERVACIÓN

PORUTGUÊS

INDICAÇÃO DE UTILIZAÇÃO

O CHANG Medium *In Situ* pode ser utilizado nas seguintes aplicações:

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

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

DESCRIÇÃO DO DISPOSITIVO

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

COMPONENTES

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

GARANTIA DE QUALIDADE

ESTERILIDADE

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

PREPARAÇÃO PARA UTILIZAÇÃO

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

DIVIDIR EM ALÍQUOTAS O CHANG MEDIUM *In Situ*

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

INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

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

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

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

1. Centrifuge o líquido amniótico a baixa velocidade para concentrar as células.
2. Ressuspenda o pellet de células num pequeno volume de líquido amniótico da própria doente. Por exemplo, aspire o sobrenadante de 10 ml de líquido amniótico centrifugado até 0,5 ml acima do pellet de células e ressuspenda. Adicione CHANG Medium *In Situ* suficiente à suspensão de células concentrada para permitir o volume final em placa equivalente a 0,5 ml por lamela (total de 4 lamelas) ou a 2 ml por frasco de cultura.
3. Incube as culturas sem interferência a 37 °C numa atmosfera de 5%–8% de CO₂.
4. Inunde as culturas no 2.º dia, adicionando 2 ml de CHANG Medium *In Situ*.
5. O crescimento das culturas deve ser verificado após 4 a 5 dias. Logo que se observe crescimento, as culturas devem ser alimentadas. Alimente as culturas, removendo todo o sobrenadante da cultura e substituindo-o por 2 ml de CHANG Medium *In Situ* fresco. Recomenda-se que as culturas sejam alimentadas a cada 2 dias daí em diante.
6. Verifique o crescimento das culturas no 5.º dia ou após esse dia e proceda à colheita quando se observarem colônias suficientes.
7. Os melhores resultados obtêm-se quando as culturas são alimentadas com CHANG Medium *In Situ* no dia anterior à colheita.

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

Nota: o CHANG Medium *In Situ* pode desenvolver alguns precipitados de oxalato de cálcio e de proteínas após a descongelação. Não se conhecem efeitos destes precipitados no desempenho do produto.

CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE

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

Proteger da luz fluorescente.

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

PRECAUÇÕES E ADVERTÊNCIAS

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

Não utilize um frasco cuja embalagem estéril tenha sido comprometida.

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

ΕΛΛΗΝΙΚΑ

ΕΝΔΕΙΞΗ ΧΡΗΣΗΣ

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

- Την πρωτογενή καλλιέργεια κυττάρων αμνιακού υγρού
- Την ανάπτυξη κυττάρων υποκαλλιεργιών αμνιακού υγρού
- Τη δειγμοληπτή συμπαγούς αμνιακού ιστού από χοριακές λάρνες.

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

ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΗΣ ΣΥΣΚΕΥΗΣ

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

ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ

| Αμνιόζα | Άλατα και ίοντα |
|---------------------------|---|
| Αλανίνη | Χλωριούχο νάτριο |
| Αργινίνη | Χλωριούχο καλίο |
| Ασπαρανίνη | Φωσφορικό νάτριο |
| Ασπαρτικό οξύ | Φωσφορικό κάλιο |
| Κυστεΐνη | Χλωριούχο ασβέστιο |
| Κυστίνη | Θειικό μαγνήσιο |
| Γλουτανικό οξύ | Χλωριούχος καλίνη |
| Γλουταμίνη | Χλωριούχο μαγνήσιο |
| Γλυκίνη | Σελήνιοντος νάτριο |
| Ισοτίνη | Θειικός χαλκός |
| Ισολευκίνη | Θειικός στίρνος |
| Λευκίνη | Θειικός φευδάργυρος |
| Λασινή | Πρωτεΐνες, ορμόνες και αυθικοί παράγοντες |
| Μεθειονίνη | Ορός από έμβυο βοσειδών |
| Φαινουλανίνη | Ορός από νεαρό βοσειδών |
| Προλίνη | Αυτρικός παράγοντας |
| Σερίνη | Ινοβλαστών (FGF) |
| Θρεονίνη | Τρανσφερίνη |
| Τριπροφάνη | Ινσουλίνη |
| Τυροσαΐνη | Προγεστερόνη |
| Βαλίνη | Τεστοσερόνη |
| Ρυμιωτικό δάλιουμα | Β'-օιστραδόλη |
| Διπανθρακικό νάτριο | Υδροκορτιζόνη |
| Βιταμίνες και ινσουτοχεία | Νουκαειδικά οξέα |
| Βιοτίνη | Κυτιδίνη |
| Ριβόφαθινίνη | Δεοξιδιανοσίνη |
| Ασκορβικό οξύ | Δεοξιδικούντην |
| Φύλακικό οξύ | Δεοξιδικούντην |
| Νικοτινικό οξύ | Δεοξιδιγουανοσίνη |
| Παντοθενικό οξύ | Γουανοσίνη |
| Πυριδοξέλη | Θυμίνη |
| Πυριδοξίνη | Ουρίδην |
| Θειομίνη | Αδενοστίνη |
| Βιταμίνη B12 | Υπόρανθινή |
| Ενεργειακά υποστρώματα | Αντιοξεδινικό |
| Γλυκόζη | Θειοκτικό οξύ |
| Ινσοτόπλη | Άλλα |
| Πυροσταφιλόκ | Αθινική αλκοόλη |
| Δείκτης pH | Πιοτρεσκίνη |
| Ερυθρός της φαινόλης | |

ΔΙΑΣΦΑΛΙΣΗ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ

ΣΤΕΠΡΟΤΗΤΗ

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

ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΧΡΗΣΗΣ

1. Απονύψτε το CHANG Medium *In Situ* γρήγορα, περιδινόντας τη φιάλη σε υδατόλουτρο θερμοκρασίας 37 °C.

2. Μπορείτε να προσθέστε αντιβιοτικά αν το επιθυμείτε.

ΔΙΑΜΟΙΡΑΣΜΟΣ ΣΕ ΚΛΑΣΜΑΤΑ ΤΟΥ CHANG MEDIUM *In Situ*

- Απομόνωστε το CHANG Medium *In Situ* σύμφωνα με τις οδηγίες.
- Διανείμετε, υπό άσπρης συνθήκης, σε πρακτικού μεγέθους κλάσματα και καταναύστε τα ξανά.
- Απομόνωστε τα κλάσματα σε υδατόλουτρο θερμοκρασίας 37 °C όταν είστε έτοιμοι να τα χρησιμοποιήσετε.

ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ

Το pH του μέσου που χρησιμοποιείται για την πρωτεύουσα καλλιέργεια ανθρώπινων κυττάρων αμνιακού υγρού για χρήση σε καρυοποίηση και άλλες προγεννητικές γενετικές εξέτασης. Αυτή η σύνθεση έχει βελτιστοποιηθεί για *In Situ* μεθοδολογίες.

Το τελικό pH πρέπει να είναι 6,8-7,2.

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

- Φύγοντες το αμνιακό υγρό σε χαμηλή ταχύτητα, για συμπλήρωση των κυττάρων.
- Επαναλάβατε την εναϊώρηση του κυτταρικού συστασιατικού με μικρό όγκο αμνιακού υγρού της ίδιας της ασθενούς. Για παράδειγμα, αναρρόφηστε το υπερκείμενο υγρό από τα 10 mL του ψυγοκεντρισμένου αμνιακού υγρού, έως τα 0,5 mL πάνω από το κυτταρικό συστασιατικό και επαναλάβατε την εναϊώρηση. Προσθέτετε επαρκή ποσότητα CHANG Medium *In Situ* στο συμπυκνωμένο κυτταρικό εναϊώρημα για να παρασχεθεί τελικός όγκος επιτρέψωσης 0,5 mL ανά καλυπτρίδα (συνολικά 4 καλυπτρίδες) ή 2 mL ανά μπουκαλάκι.
- Επιτύχετε τις καλλιέργειες αδιάταρκτες σε ατμόσφαιρα 5%-8% CO_2 στους 37 °C.
- Γεμίστε τις καλλιέργειες τη 2η ημέρα, προσθέτοντας 2 mL CHANG Medium *In Situ*.
- Μετά από 4 έως 5 ημέρες, οι καλλιέργειες θα πρέπει να ελέγχονται για την ανάπτυξη τους. Η παροχή θρεπτικού υλικού στις καλλιέργειες θα πρέπει να γίνεται αφού παρατηρηθεί ανάπτυξη. Παρέχετε θρεπτικό υλικό στις καλλιέργειες αφαιρώντας ολόκληρη την ποσότητα του υπερκείμενου υγρού της καλλιέργειας και αντικαθιστώντας το με 2 mL φρέσκου CHANG Medium *In Situ*. Συνιστάται η παροχή θρεπτικού υλικού στις καλλιέργειες κάθε 2 ημέρες από αυτό το σημείο και έπειτα.
- Ελέγχετε την ανάπτυξη των καλλιέργειών την 5η ημέρα, ή μετά από αυτήν, και συλλέξτε όταν παρατηρήσουν επαρκείς αποκίες.
- Τα καλύτερα αποτελέσματα λαμβάνονται όταν οι καλλιέργειες τρέφονται με CHANG Medium *In Situ* την ημέρα πριν από τη συλλογή.

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

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

Σημείωση: Το CHANG Medium *In Situ* ενδέχεται να αναπνύει ζήματα οξειδικού ασβέστιου και πρωτεΐνης από την απόψη. Αυτά τα ζήματα δεν είναι γνωστό να έχουν επίδραση στην απόδοση του προϊόντος.

ΦΥΛΑΞΗ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ

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

Προστατέψτε το από φθορίζον φως.

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

ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΕΙΣ

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

Μη χρησιμοποιείτε καμία φιάλη στην οποία έχει παρασκευαστεί η ακεραιότητα της αποστειρωμένης συσκευασίας.

ČEŠTINA

INDIKACE PRO POUŽITÍ

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

- primkulтивace buněk z plodové vody
- pěstování pasážovaných buněk z plodové vody
- odběr vzorků pěvné amniotické tkáně z choriových klík

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

POPIΣ PROSTŘEDKU

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

SLOŽKY

Aminokyseliny

Soli a ionty

Alanin

Arginin

Asparagin

Kyselina asparagová

Cystein

Cystin

Kyselina glutamová

Glutamin

Glycin

Histidin

Isoleucin

Leucin

Lysin

Methionin

Fenylyalanin

Prolin

Serin

Threonin

Tryptofan

Tyrosin

Valin

Purf

Hydrogenučitan sodný

Vitaminy a stopové prvky

Biotin

Riboflavin

Kyselina askorbová

Kyselina listová

Kyselina nikotinová

Deoxyguanosin

Kyselina pantotenová

Pyridoxal

Pyridoxin

Thiamin

Vitamin B12

Energetické substráty

Glukóza

Inositol

Pyruvát

Indikátor pH

Febolová červeň

Chlorid sodný

Chlorid draselný

Fosforečnan sodný

Fosforečnan draselný

Chlorid vaperaténat

Siran hořečnatý

Cholinchlorid

Chlorid hořečnatý

Seleničtan sodný

Siran mědnatý

Siran železnatý

Siran zinečnatý

Protein, hormony

a růstové faktory

Fetální bovinní sérum

Novozélandské bovinní sérum

Fibroblastový růstový faktor (FGF)

Transferin

Inzulin

Progesteron

Testosteron

E-estradiol

Hydrokortisol

Nukleoproteiny

Cytidin

Deoxyadenosin

Deoxyctydin

Deoxyguanosin

Guanosin

Thymidin

Uridin

Adenosin

Hoxapantin

Antioxidant

Kyselina thioktová

Ostatní

Ethyalkohol

Putrescin

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

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

Poznámka: Při rozmarování média CHANG Medium *In Situ* může dojít k výraznému nevelkému množství šílenavému vaperatému a proteinů. Není známo, že by tyto zrazeniny měly vliv na funkci výrobku.

UCHOVÁVÁNÍ A STABILITA

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

Chraňte před fluorescenčním světlem.

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

BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ A VAROVÁNÍ

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

Nepoužívejte žá

DANSK

INDIKATIONER FOR ANVENDELSE

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

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

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

BESKRIVELSE AF PRODUKTET

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

KOMPONENTER

| Aminosyre | Salte og ioner |
|----------------------------|--------------------------------------|
| Alanin | Natriumklorid |
| Arginin | Kaliumklorid |
| Asparagin | Natriumfosfat |
| Asparaginsyre | Kaliumfosfat |
| Cystein | Kalciumklorid |
| Cystin | Magnesiumsulfat |
| Glutaminsyre | Kolinklorid |
| Glutamin | Magnesiumklorid |
| Glycin | Natriumselenit |
| Histidin | Cuprosulfat |
| Isoleucin | Jernsulfat |
| Leucin | Zinksulfat |
| Lysin | Proteiner, hormoner og væksnfaktorer |
| Methionin | Født bovin serum |
| Phenylalanin | Serum fra nyfødt kalv |
| Prolin | Fibroblastvækstfaktor (FGF) |
| Serin | Transferrin |
| Threonin | Insulin |
| Tryptofan | Progesteron |
| Tyrosin | Testosteron |
| Valin | B-estradiol |
| Buffer | Hydrokortison |
| Natriumbikarbonat | Nukleinsyrer |
| Vitaminer og sporelementer | Cytidin |
| Biotin | Déoxyadenosin |
| Riboflavin | Déoxycytidin |
| Ascorbinsyre | Déoxyguanosin |
| Folinsyre | Guanosin |
| Nikotinsyre | Thymidin |
| Panthothenysyre | Uridin |
| Pyridoksal | Adenosin |
| Pyridoxin | Hypoxanthin |
| Thiamin | Antioxidant |
| B12-vitamin | Thiocytres |
| Energisubstrater | Andre |
| | Æthyalkohol |
| | Putrescin |
| pH-indikator | |
| Red fenol | |

KVALITETSSIKRING

STERILITET

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

KLARGØRING

1. Opt hængt CHANG Medium *in situ* ved at hvirle flasken i et 37 °C vandbad.
2. Der kan eventuelt tilsættes antibiotika.

AFMÅLING AF CHANG MEDIUM *in situ*

1. Opt CHANG Medium *in situ* ifølge vejledningen.
2. Fordel mediet aseptisk i mængder af passende størrelse, og nedfrys dem igen.
3. Opt de opdelt mængder i et 37 °C vandbad, når de skal bruges.

BRUGSANVISNING

pH-værdien af det medium, der anvendes til kulturerne, skal være 6,8–7,2 (dvs. at mediet skal have en let gullig laksefarve). pH-værdien kan let justeres ved at anbringe mediet i en inkubator med 5–8 % CO₂ med låget løsnet i et ca. 30 minutter.

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

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

1. Centrifugér amnionvæsken ved lav hastighed for at koncentrere cellerne.
2. Resuspend cellepelleten i en lille volumen af patientens egen amnionvæske. Aspirér f.eks. supernatanten fra 10 ml centrifugeret amnionvæske til 0,5 ml over cellepelleten, og resuspend. Tilsæt nok CHANG Medium *in situ* til den koncenterede cellesuspension for at få en endelig udsårsningsvolumen på 0,5 ml pr. dækglas (i alt 4 dækglas) eller 2 ml pr. ampol.
3. Inkubér kulturerne uforstyrret ved 37 °C i en atmosfære med 5–8 % CO₂.
4. Skyld kulturerne på dag 2 ved at tilsætte 2 ml CHANG Medium *in situ*.
5. Efter 4–5 dage skal kulturernes vækst kontrolleres. Kulturerne skal næres, når der er observeret vækst. Dette gøres ved at fjerne hele kultursupernatanten og erstatter den med 2 ml friskt CHANG Medium *in situ*. Det anbefales, at kulturerne næres hver anden dag herefter.
6. Kontroller kulturernes vækst på/eller efter dag 5, og host, når der observeres noks Kolonier.
7. De bedste resultater opnås, hvis kulturerne forsynes med CHANG Medium *in situ* dagen inden høsten.

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

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

BEMÆRK: CHANG Medium *in situ* kan udvikle calciumoxalat og proteinudfaldninger ved optøning. Disse udfaldninger har ikke nogen kendt indvirking på produktets dødeevne.

OPBEVARING OG STABILITET

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

Beskrybes mod fluorescerende lys.

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

FORHOLDSREGLER OG ADVARSLER

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

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

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

SUOMI

KÄYTTÖAIHE

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

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

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

VÄLINEEN KUVAUS

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

AINESOSAT

| Aminohapot | Suolet ja ionit |
|---------------------------|-------------------------------------|
| alanini | natriumkloridi |
| arginiini | kaliumkloridi |
| asparagiini | natriumfosfaatti |
| asparaginhappo | kaliumfosfaatti |
| kysteini | kaliumkloridi |
| kystiini | magnesiumsulfatti |
| glutamiinihappo | kolinikloridi |
| glutamiini | magnesiumkloridi |
| glysiini | natriumelenotti |
| histidiini | kuparisulfatti |
| isoleusini | ferrosulfatti |
| leusini | sinkisulfatti |
| lysiini | Proteinit, hormonit ja kasvutekijät |
| metionini | naudan sikiön seerumi |
| fenylialanini | vastasyntyneen naudan seerumi |
| prolini | serumi |
| serini | treoniini |
| tryptofani | tyrosini |
| valiini | insuliini |
| Puskuuri | progesteroni |
| natriumbikarbonatti | testosteroni |
| Vitamiinit ja hivenaineet | beataestradioli |
| biotini | hydrokortisoni |
| riboflavini | Nukleinihapot |
| askorbiinhappo | sytiidiini |
| foolihappo | deoksianidenoosi |
| nikotinihappo | deoksitymidini |
| pantoteenihappo | deoksiguanosini |
| pyridoksaali | tymidini |
| pyridoksiini | uridiini |
| tiämäni | adenosini |
| B12-vitamiini | hypokantanti |
| Energiasubstraatti | Antioksidantti |
| glukoosi | tioksihappo |
| inositol | Mutut |
| pyruvaatti | etanol |
| pH-indikaattori | putreskiini |
| fenolipuna | |

LAADUNVARMENNUS

STERILIYS

CHANG Medium *In Situ* -tuotteen valmistukessa käytetään seerumi on testattu viruskontaminaation varalta CFR-säännöksen osan 9 pykälän 113.53 mukaisesti. Se on seultoutu myös mykoplasmakontaminaation varalta. CHANG Medium *In Situ* on steriloitu suodattamalla 0,1 mikronin suodattimen läpi. CHANG Medium *In Situ* -tuotteen näytetään testataan mahdollisen bakteerikontaminaation varalta noudataan voimassaolevassa USP-steriliystestissä <71> kuvattua steriliitestausmenettelyä.

KÄYTÖN VALMISTELU

1. Sulata CHANG Medium *In Situ* -elatusaine nopeasti, 37 °C:n vesihautaeessä pulloa pyöritytäen.
 2. Haluttaessa voidaan lisätä antibiooteja.
- CHANG MEDIUM *In Situ* -ELATUSAINEEN JAKAMINEN ERIN**
1. Sulata CHANG Medium *In Situ* ohjeiden mukaisesti.
 2. Jaa aseptisesti meneillään käytetään kokoisiin eriin ja pakasta uudelleen.
 3. Kun elatusaineet tarvitaan käytöön, sulata erät 37 °C:n vesihautaeessa.

KÄYTTÖOHJEET

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

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

CHANG Medium *In Situ* -elatusaineen käyttö primaariviljeliin: *in situ* -menetelmä

1. Konsentroi solut centrifugoinnilla lapsivettä pienellä nopeudella.
2. Suspendoi solusakka pienemmän potilaan omaa lapsivettä. Jos esimerkiksi 10 ml:n lapsivensinäyte centrifugoidaan, aspiroi supernantiaa pois niin, että solusakan yläpuolelle jää 0,5 ml, ja suspendoi näytteen uudelleen. Lisää riittävästi CHANG Medium *In Situ*-liuosta konsentroitun solususpensioni, niin että lopullinen määrä on 0,5 ml / peitinsiili (yhenteä 4 peitinsiiliä) tai 2 ml / pieni viljelypullo.
3. Inkuboi viljeliä ilman häiriötä 37 °C:ssa 5–8-prosenttisessa CO₂-ilmanvaihdossa.
4. Lisää viljeliä 2 ml CHANG Medium *In Situ*-liuosta päävänä 2.
5. Viljeliä kasvuun tarkistettava 4–5 päävän kuluttua. Viljeliä on ravittava, kun kasvu on havaittu. Ravitse viljeliä poistamalla koko viljelman supernantia ja korvaamalla se 2 ml:lla tuoretta CHANG Medium *In Situ*-liuosta. On suositeltavaa, että viljeliä ravitaan tämän jälkeen 2 päävän välein.
6. Tarkista viljeliä kasvu päävän 5 tai sen jälkeen. Kerää solut, kun havaitaan riittävästi pesäkeilä.
7. Parhaat tulokset saadaan, kun viljeliä ravitaan CHANG Medium *In Situ*-liuoksella keräämistä edeltävänä päävänä.

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

Siirrosta solut käsittelemällä viljelmät trypsiinillä (tai pronaasilla jne.) kuten normaalitiskiin, kun soluja kasvatetaan perinteisessä elatusaineessa. Proteasisäksittelyä on kuitenkin valvottava huolla. CHANG Medium *In Situ*-liuoksessa kasvatetut lapsivesisolut ovat herkempia proteasisäksittelylle kuin perinteisessä elatusaineessa kasvatetut lapsivesisolut. Kasvatustimenetelmä on ehkä muutettava tämän huomioon ottamiseksi.

Huomautus: CHANG Medium *In Situ*-liuokseen saatetaan muodostua sulamisen yhteydessä kalsiumoksalatit- ja proteiniisakkaa. Tällä sakalla ei tiedetä olevan mitään vaikutusta tuotteen toimintakykyyn.

SÄILYTTÄMINEN JA STABIILISUUS

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

Suojaa loistevalaisimen valolta.

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

VAROTOIMET JA VAROITUKSET

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

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

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

LATVIKI

LIETOŠANAS INDIKĀCIJA

„CHANG Medium *In Situ*” Čanga barotni *in situ*) var lietot tālak norādītojās gadījumos.

- Augla ūdens šūnu primārā kultivēšana.
- Pārsētu augla ūdens šūnu audzēšana.
- Kompaktajiem amnija audiem, kas iegūti horija bārkstīju parauga izmeklēšanā.

Šī barotne ir paredzēta izmantošanai CO_2 inkubatoros (kultūras līdzsvaro 5–8 % CO_2 vidē).

IERĪCES APRAKSTS

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

SASTĀVDALAS

| Aminoskābes | Sāli un joni |
|---------------------------|---|
| Alanīns | Nātrija hlorīds |
| Argīnīns | Kālijā hlorīds |
| Asparagīns | Nātrija fosfāts |
| Asparagīnskābe | Kālijā fosfāts |
| Cisteīns | Kalcijā hlorīds |
| Cistīns | Magnija sulfāts |
| Glutamīnskābe | Holīna hlorīds |
| Glutamīns | Magnija hlorīds |
| Glicīns | Nātrija selenīts |
| Histidīns | Vara sulfāts |
| Izoleicīns | Dzelzs sulfāts |
| Leicīns | Cinka sulfāts |
| Lizīns | Proteīni, hormoni un augšanas faktori |
| Metionīns | Lieloopu embrūju serums |
| Fenilalanīns | Lieloopu jaundzīmiso telju serums |
| Profīns | Fibroblastu augšanas faktors (fibroblast growth factor – FGF) |
| Serīns | Treonīns |
| Treonīns | Fibroblastu augšanas faktors (fibroblast growth factor – FGF) |
| Triptofāns | Tirozīns |
| Tirozīns | Valīns |
| Bufērķidums | Transferīns |
| Nātrija bikarbonāts | Insulīns |
| Vitamīni un mikroelementi | Progesterons |
| Biotīns | Testosterons |
| Riboflavīns | B-estradiols |
| Askorbinskābe | Hidrokortizons |
| Folījskābe | Nukleīnskābes |
| Nikotīnskābe | Citīdiņi |
| Pantotēnskābe | Dezoksiadenozīns |
| Piridoksls | Dezoksiguanozīns |
| Piridoksls | Guanoīns |
| Tiamīns | Timidīns |
| Vitaminīns B12 | Uridīns |
| Enerģijas substrāti | Adenoīns |
| Glikoze | Hipoksantīns |
| Inozīts | Antioksidants |
| Piruvāts | Tiokotskābe |
| pH indikators | Citas |
| Fenolsarkāns | Etispīrs |
| | Putrescīns |

KVALITĀTES NODROŠINĀŠANA

STERILITĀTE

„CHANG Medium *In Situ*” rāzošānā izmantotais serumus pārbaudīts, lai noteiku vīrusālo piesārņojumu, saskaņā ar nosacījumiem Federālo normatīvo aktu kodeksa (Code of Federal Regulation – CFR) 9. sadaļas 113.53. nodalā. Tas pārbaudīts arī, lai noteiku piesārņojumu ar mikoplazmu.

„CHANG Medium *In Situ*” ir sterilizēta, filtrējot caur 0,1 mikronu filtru. „CHANG Medium *In Situ*” paraugā pārbaudīti, lai noteiku iespējamo bakteņuļu piesārņojumu, atbilstoši sterilitātes testēšanas protokolam, kas aprakstīts pašreizējā ASV Farmakopejas (USP) sterilitātes testā <71>.

SAGATAVOŠĀNA LIETOŠANAI

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

„CHANG MEDIUM *In Situ*” DALĪŠANA ALIKVOTĀJĀS DALĀS

- Atkausējiet „CHANG Medium *In Situ*” atbilstoši norādījumiem.
- Aseptiski veidā sadaliet piemērotu lieluma alikvotājās dalās un atkārtoti sasaļējiet.
- Alikvotās daļas atkausējiet 37 °C ūdens vannā, kad satav gatav tās lietot.

LIETOŠANAS NORĀDĪJUMI

Kultūru papildināšanai izmantošanai barotnes pH jābūt 6,8–7,2 (t. i., barotnei jābūt nedaudz iedzeltenā laša krāsā). pH līmenis ir viegli pielāgojams, barotnes flakonu ar nedaudz valgāju uzliktu aizbāzni uz apmēram 30 minūtēm ievietojot 5–8 % CO_2 inkubatorā.

Galīgajam pH līmenim jābūt 6,8–7,2.

„CHANG Medium *In Situ*” lietošana primārajai kultivēšanai: *in situ* metodes

- Centrifugējiet augla ūdeni ar nelielu ātrumu, lai koncentrētu ūnas.
- Šūnu lodīti atkārtoti suspendējiet nelielā daudzumā pašā pacienta augla ūdens. Piemēram, aspiрējiet supernatantu no 10 ml augla ūdens centrifugātā līdz 0,5 ml virs ūnu lodītes un atkārtoti suspendējiet. Koncentrējotai ūnu suspensijai pievienojet pietiekamu daudzumu „CHANG Medium *In Situ*”, lai iegūtu galīgo uzsēšanas daudzumu 0,5 ml uz katru segstikliju (pavisam 4 segstikliji) vai 2 ml uz flakonu.
- Netraucēti inkubējiet kultūras 37 °C temperatūrā 5–8 % CO_2 vidē.
2. dienā uzplūdiniet kultūras, pievienojot 2 ml „CHANG Medium *In Situ*”.
5. Pēc 4–5 dienām jāpārbauda kultūru augšana. Tiklīdz novēro augšanu, kultūras jāpapildina. Papildiniet kultūras, nonemot visu kultūras supernatantu un aizvietojot to ar 2 ml savaigas „CHANG Medium *In Situ*”. Pēc tam ieteicams kultūras papildināt ik pēc 2 dienām.
6. 5. dienā/vai pēc tās pārbaudiet kultūru augšanu un, kad novēro pietiekama apjoma kolonijas, ievāciet ūnas.
7. Vislabākos rezultātus iegūst, ja kultūras papildinā ar „CHANG Medium *In Situ*” vienu dienu pirms ievākšanas.

„CHANG Medium *In Situ*” izmantošana pārbaudītu augla ūdens ūnu audzēšanai
Lai pārbaudītu ūnas, kultūras apstrādājiet ar tripsīnu (vai pronāzi u. c.), kā to parasti darītu, ja ūnas tiktu audzētas standarta barotnē. Tomēr apstrāde ar proteāzi rūpīgi jākontrolē. Barotnē „CHANG Medium *In Situ*” audzētām augla ūdens ūnām ir nosliece uz lielāku jutību pret apstrādi ar proteāzi nekā standarta barotnē audzētām augla ūdens ūnām. Lai šā nemūtu vērā, iespējams, jāpārveido protokols.

Piezīme: barotnē „CHANG Medium *In Situ*” pēc atkausēšanas var veidoties kalcija oksalāts un proteinu nogulsnes. Nav datu par šo nogulšņu ietekmi uz produkta raksturlielumiem.

GLĀBĀŠANA UN STABILITĀTE

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

Aizsargājiet no fluorescējošas gaismas.

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

PIESARDZĪBAS PASĀKUMI UN BRĪDINĀJUMI

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

Nelietojiet nevienu pudeli, kurai ir bojāts sterilaus iesaīojums.

„CHANG Medium *In Situ*” nelietot pēc derīguma termiņa, kas norādīts etiketē.

NEDERLANDS

INDICATIE VOOR GEBRUIK

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

- de primaire kweek van vruchtwatercellen
- het groeien van gepasseerde vruchtwatercellen
- vast amnionweefsel van een chorionvillusbiospie.

Dit medium is bedoeld voor gebruik in CO_2 -incubators (kweken geëquilibreerd met 5%-8% CO_2 -atmosfeer).

BESCHRIJVING VAN HET HULPMIDDEL

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

COMPONENTEN

| | |
|---------------------------|--------------------------------------|
| Aminozuren | pH-indicator |
| Alanine | Fenolrood |
| Arginine | Zouten en ionen |
| Asparagine | Natriumchloride |
| Asparaginskābe | Kaliumchloride |
| Cisteīns | Natriumfosfaat |
| Cistīns | Kaliumfosfaat |
| Glutamīnskābe | Calciumchloride |
| Glutamīns | Magnesiumsulfāt |
| Glicīns | Cholinechloride |
| Histidīns | Magnesiumchloride |
| Isoleucīns | Natriumselenit |
| Leucīns | Cuprosulfāt |
| Lysīne | Ferrozulfāt |
| Methionīne | Zinksulfāt |
| Fenylalanīne | Eiwitten, hormonen en groei factoren |
| Proline | Foetaal runderserum |
| Serīne | Pasgeboren kalffserum |
| Treonīns | Fibroblast groei factor (FGF) |
| Tryptofāns | Transferrine |
| Tyrosīne | Insulīne |
| Valīne | Progesteron |
| Buffer | Testosteron |
| Natriumbikarbonāts | B-estradiol |
| Vitamīni en spoorelementi | Hydrocortisol |
| Biotīns | Nucleinezuren |
| Riboflavīns | Cytidine |
| Askorbinskābe | Deoxyadenosine |
| Folījskābe | Deoxycytidine |
| Nikotīnskābe | Nicotinezuur |
| Pantotēnskābe | Pantotheenzuur |
| Piridoksls | Pyridoxal |
| Piridoksls | Pyridoxine |
| Tiamīns | Thiamine |
| Vitaminīns B12 | Vitamine B12 |
| Enerģijas substrāti | Energiesubstraten |
| Glikoze | Antioxidant |
| Inozīts | Glucose |
| Piruvāts | Alfa-liponzuur |
| pH indikators | Overige |
| Fenolsarkāns | Ethylalcohol |
| | Putrescīne |

KWALITEITSBORING

STERILITĒTE

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

VOORBEREIDING OP HET GEBRUIK

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

OPDELEN VAN CHANG MEDIUM *In Situ*

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

GEBRUIKSAANWIJZING

De pH van het medium dat wordt gebruikt om de kweken te voeden, moet tussen 6,8 en 7,2 liggen (d.w.z. dat het medium een enigszins gelige zalmkleur moet hebben). De pH-waarde kan eenvoudig worden aangepast door het medium met een iets losgedraaid dop gedurende circa 30 minuten in een 5%-8% CO_2 -incubator te zetten.

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

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

- Centrifuge het vruchtwater op lage snelheid om de cellen te concentreren.
- Resuspendeer de celpellet in een kleine hoeveelheid eigen vruchtwater van de patiënt. Voorbeeld: Aspireer het supernatant van 10 ml gecentrifugeerd vruchtwater tot 0,5 ml boven de celpellet en resuspendeer. Voeg voldoende CHANG Medium *In Situ* aan de geconcentreerde celuspensie toe tot een eindvolume van 0,5 ml per dekglasje (4 dekglaasjes in totaal) of 2 ml per flesje is verkregen.
- Zet de kweken ongestoord in de incubator bij 37 °C en 5%-8% CO_2 -atmosfeer.
- Bedeck de kweken op dag 2 volledig door 2 ml CHANG Medium *In Situ* toe te voegen.
- Controleer na 4 à 5 dagen of de kweken zijn gegroeid. Nadat is vastgesteld dat de kweken groeien, moeten ze worden gevoed. Voed de kweken door al het kweeksupernatant te verwijderen en te vervangen door 2 ml vers CHANG Medium *In Situ*. Aanbevolen wordt de kweken daarna elke twee dagen te voeden.
- Controleer de kweken op of na dag 5 op groei en oogst als er voldoende koloniën worden waargenomen.
- De beste resultaten worden verkregen als de kweken op de dag voor de oogst met CHANG Medium *In Situ* worden gevoed.

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

Passeer de cellen door de kweken met trypsin (of pronase etc.) te behandelen, zoals u dat normaal gesproken zou doen bij cellen die in een traditioneel medium gekweekt zijn. Proteasebehandeling dient echter zorgvuldig in de gaten te worden gehouden. Vruchtwatercellen die in CHANG Medium *In Situ* zijn gekweekt, zijn vaak gevoeliger voor proteasebehandeling dan vruchtwatercellen die in een traditioneel medium zijn gekweekt. Houd hier rekening mee en wijzig zo nodig uw protocol.

NB: Bij het ontdooien zal CHANG Medium *In Situ* mogelijk wat calciumoxalaat- en eiwitneerslag vormen. Deze neerslag heeft voor zover bekend geen invloed op de prestaties van het product.

BEWAREN EN STABILITEIT

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

Bescherm tegen fluorescentielicht.

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

VOORZORGSMAAATREGELEN EN WAARSCHUWINGEN

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

Gebruik geen flessen waarvan de steriele verpakking beschadigd is.

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

POLSKI

PRZEZNACZENIE

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

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

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

OPIS WYROBU

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

SKŁADNIKI

| Aminokwasy | Sole i jony |
|--------------------------------|-------------------------------------|
| Alanina | Chlorek sodu |
| Arginina | Chlorek potasu |
| Asparagina | Fosforan sodu |
| Kwas asparaginowy | Fosforan potasu |
| Cysteina | Chlorek wapnia |
| Cystyna | Siarczan magnezu |
| Kwas glutaminowy | Chlorek choliny |
| Glutamina | Chlorek magnezu |
| Glycyna | Selenian sodu |
| Histydyna | Siarczan miedzi |
| Izoleucyna | Siarczan żelaza |
| Leucyna | Siarczan cynku |
| Lizyna | Białka hormony |
| Metionina | Czynniki wzrostu |
| Fenyloalanina | Plodowa surowica bydlęca |
| Prolina | Surowica noworodzeniowych cieląt |
| Seryna | Czynniki wzrostu fibroblastów (FGF) |
| Treonina | Transferryna |
| Tryptofan | Insulina |
| Tyrozyna | Progesteron |
| Walina | Testosteron |
| Bufor | B-estradiol |
| Wodorowęglan sodu | Hydrokortyzon |
| Witaminy i pierwiastki śladowe | Kwas nukleinowy |
| Biotyna | Cytydyna |
| Rybofilawina | Decksyadenozyna |
| Kwas askorbinowy | Decksocytydyna |
| Kwas foliowy | Decksyguanozyna |
| Kwas nikotynowy | Guanozyna |
| Kwas pantotenowy | Tymidyna |
| Pirydoksal | Urydyna |
| Pirydoksyna | Adenozyna |
| Tiamina | Hipoksantyna |
| Witamina B12 | Antyoksydant |
| Substraty energetyczne | Kwas lioktanowy |
| Glukoza | Inne |
| Inozytol | Alkohol etylowy |
| Pirogronian | Putrescyna |
| Wskaznik pH | |
| Czerwień fenolowa | |

ZAPewnianie JAKOŚCI

STERYLNOŚĆ

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

PRZYGOTOWANIE DO UŻYCIA

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

ROZDZIELANIE POŻYWKI CHANG MEDIUM *IN SITU* NA PORCJE

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

INSTRUKCJA UŻYCIA

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

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

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

1. Odwirować płyn owodniowy przy niskiej prędkości, aby założyć komórki.
2. Zawiesić osad komórkowy w małej objętości płynu owodniowego pacjentowi. Na przykład zaasprować nadsięcze z 10 ml odwirowanego płynu owodniowego do 0,5 ml nad osadem komórkowym, a następnie zawiesić osad. Dodać wystarczającą ilość pożywki CHANG Medium *In Situ* do zatężonej zawiesiny komórkowej, aby uzyskać końcową objętość posiewu równą 0,5 ml na szkiełko nakrywkowe (łącznie 4 szkiełka nakrywkowe) lub 2 ml na butelkę hodowlaną.
3. Inkubować hodowle w temperaturze 37°C w atmosferze 5%-8% CO₂, nie zakłócając ich.
4. W dniu 2. zalać hodowle, dodając 2 ml pożywki CHANG Medium *In Situ*.
5. Po 4–5 dniach sprawdzić wzrost hodowli. Po zaobserwowaniu wzrostu należy zasilić hodowle pożywką. Zasilać hodowle pożywką, usuwając cały nadsięcze hodowli i zastępując go 2 ml świeżej pożywki CHANG Medium *In Situ*. Po wykonaniu tej czynności zalecane jest zasilenie hodowli pożywką co 2 dni.
6. Sprawdzić wzrost hodowli w 5. dniu lub w późniejszych dniach i zebrać komórki, jeśli zaobserwowano wystarczającą liczbę kolonii.
7. Najlepsze wyniki otrzymywano, gdy zasiliano hodowle pożywką CHANG Medium *In Situ* dzień przed zbiorem.

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

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

Uwaga: Przy rozmrzaniu pożywki CHANG Medium *In Situ* mogą wytrącać się pewne ilości szczawianu wapnia i białek w postaci osadów. Nie stwierdzono, aby te osady wpływaly na właściwości produktu.

PRZECZYWYWARZIE I STABILNOŚĆ

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

Chronić przed światłem fluorescencyjnym.

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

ŚRODKI OSTROŻNOŚCI I OSTRZEŻENIA

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

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

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

INDICAȚIE DE UTILIZARE

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

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

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

DESCRIEREA DISPOZITIVULUI

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

KOMPONENTE

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

ASIGURAREA CALITĂȚII**STERILITATE**

Serul utilizat la producerea CHANG Medium *In Situ* a fost testat pentru a nu fi contaminat viral, în conformitate cu CFR Titlu 9 Partea 113.53. Aceasta a fost ca asemenea analizat pentru detectarea contaminării cu mycoplasma. CHANG Medium *In Situ* este sterilizat prin filtrare printr-un filtru de 0,1 microni. Probe de CHANG Medium *In Situ* sunt testate pentru a nu prezenta o posibilă contaminare bacteriologică după protocolul de testare a sterilității descris în testul de sterilitate actual prevăzut de Farmacopeea Americană <71>.

PREGĂTIREA PENTRU UTILIZARE

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

REPARTIZAREA ÎN PĂRȚI ALICOTE A CHANG MEDIUM *In Situ*

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

INSTRUCȚIUNI DE UTILIZARE

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

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

Utilizarea CHANG Medium *In Situ* pentru culturi primare: metodologia în situ

1. Centrifugăți lichidul amniotic la viteza redusă pentru a concentra celulele.
2. Resuspendați peletă cu celule într-un volum mic din propriul lichid amniotic al pacientei. De exemplu, aspirați supernatantul din 10 ml de lichid amniotic centrifugat la 0,5 ml deasupra peletei cu celule și resuspendați. Adăugați suficient CHANG Medium *In Situ* la soluția de celule concentrată pentru a permite un volum de acoperire final de 0,5 ml per lamelă (în total 4 lamele) sau 2 ml per flaconă.
3. Incubați culturile fără a le agita la 37°C într-o atmosferă de CO₂ 5%-8%.
4. Inundați culturile în ziua 2 prin adăugarea a 2 ml de CHANG Medium *In Situ*.
5. După 4 sau 5 zile, culturile trebuie verificate pentru a se vedea dacă există creștere. Odată ce s-a observat creșterea, culturile trebuie hrănite. Hrăniți culturile prin îndepărțarea întregului supernatant al culturii și înlăturarea cu 2 ml CHANG Medium *In Situ* proaspăt. Se recomandă hrănirea în continuare a culturilor la fiecare 2 zile.
6. Controlați culturile pentru a vedea dacă există creștere în/sau după ziua 5 și recoltați atunci când se observă suficiente colonii.
7. Cele mai bune rezultate se obțin atunci când culturile sunt hrănite cu CHANG Medium *In Situ* în ziua anterioră recoltării.

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

Pentru a pasaja celulele, tratați culturile cu tripsină (sau prona zk etc.), așa cum atunci procedă în mod normal atunci când celulele sunt crescute într-un mediu convențional. Cu toate acestea, tratamentul cu protează ar trebui monitorizat cu atenție. Celulele din lichidul amniotic crescute în CHANG Medium *In Situ* tind să fie mai sensibile la tratamentul cu protează decât celulele din lichidul amniotic crescute într-un mediu convențional. Poate fi necesar să vă modificați protocolul pentru a lua în considerare acest lucru.

Notă: CHANG Medium *In Situ* poate forma unele precipitate de oxalat de calciu și proteine la decongelare. Nu se cunoaște niciun efect al acestor precipitate asupra performanței produsului.

DEPOZITARE ȘI STABILITATE

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

Protejați lumina fluorescentă.

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

PRECAUȚII ȘI AVERTISMENTE

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

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

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

SVENSKA**INDIKATIONER**

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

1. primärdeling av celler i amniovätska
2. odling av celler från amniovätska från passage
3. fast amniovävnad från chorionvillbiopsi.

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

PRODUKTBESKRIVNING

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

KOMPONENTER

| | |
|-------------------------|---|
| Aminosyror | pH-indikator |
| Alanin | Fenolrött |
| Arginin | Salter och ioner |
| Asparagin | Natriumklorid |
| Asparaginsyra | Kaliumklorid |
| Cistein | Natriumfosfat |
| Cystin | Kaliumfosfat |
| Acid glutamic | Kaliumklorid |
| Glutamin | Magnesiumulfat |
| Glycin | Kolinklorid |
| Histidin | Magnesiumklorid |
| Isoleucin | Natriumselenit |
| Leucin | Kopparulfat |
| Lizin | Ferroulfat |
| Metionin | Zinksulfat |
| Fenylalanin | Proteiner, hormoner samt tillväxtfaktorer |
| Prolin | Fetalt bovint serum |
| Serin | Serum från nyfödda kalvar |
| Treonin | Fibroblasttillväxtfaktor (FGF) |
| Triptofan | Transferin |
| Tirosin | Insulin |
| Valin | Buffert |
| Vitaminer och spårämmen | Progesteron |
| Biotin | Testosteron |
| Riboflavin | Beta-estradiol |
| Ascorbinsyra | Hydrokortison |
| Folsyra | Nukleinsyror |
| Nikotinsyra | Cytidin |
| Pantotsensyra | Deoxiadenosin |
| Pyridoxal | Deoxycytidin |
| Pyridoxin | Deoxyguanosin |
| Tiamin | Guanosin |
| Vitamin B12 | Tymidin |
| Energisubstrat | Uridin |
| Glukos | Adenosin |
| Inositol | Hypoxantin |
| Pyruvat | Antioxidant |
| | Tiotkinsyra |
| | Ovrigt |
| | Etylalkohol |
| | Putrescin |

KVALITETSSÄKRING**STERILITET**

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

BEREDNING FÖR ANVÄNDNING

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

ALIKVOTERING AV CHANG MEDIUM *In Situ*

1. Tina upp CHANG Medium *In Situ* enligt anvisningarna.
2. Fördela mediet aseptiskt i alikvoter av lämplig storlek och frys ner dem på nyt.
3. Tina upp alikvoterna i ett 37 °C vattenbad när de ska användas.

BRUKSANVISNING

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

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

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

1. Centrifugera amniovätskan på låg hastighet för att koncentrera cellerna.
2. Resuspendera cellpelleten i en liten volym av patientens egen amniovätska. Aspirera t.ex. supernatanten från 10 ml centrifugeras amniovätska till 0,5 ml ovanför cellpelleten och resuspendera. Tillsätt tillräckligt med CHANG Medium *In Situ* till den koncentrerade celluspensionen för att möjliggöra en slutlig plattvolym på 0,5 ml per täckglas (totalt 4 täckglas), eller 2 ml per flaska.
3. Inkubera kulturerna, utan att störa dem, vid 37 °C i 5–8 % CO₂-atmosfär.
4. Flöda kulturerna på dag 2 genom att tillsätta 2 ml CHANG Medium *In Situ*.
5. Efter 4–5 dagar bör kulturerna kontrolleras med avseende på växt. Närings tillförs till kulturerna så snart växt har observerats. Tillföra näring till kulturerne genom att avlägsna all supernatant från kulturen och ersätta den med 2 ml färskt CHANG Medium *In Situ*. Det rekommenderas att därefter tillföra näring till kulturerne 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 *In Situ* dagen innan de skördas.

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

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

Anm: Vid uppstigning av CHANG Medium *In Situ* kan en viss mängd kalciumpoxat- och proteinfallningar bildas. Dessa fallningar har inte visats utöva någon effekt på produktens funktion.

FÖRVARING OCH HÅLLBARHET

Förvara CHANG Medium *In Situ* frysad vid -10 °C. Oavsett CHANG Medium *In Situ* kan frysas ned på nyt eller förvaras vid 2–8 °C.

Skyddas mot fluorescerande ljus.

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

FÖRSIKTIGHETSÄTGÄRDER OCH VARNINGAR

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

Flaskor vars sterila förpackning inte är intakt får inte användas.

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

ESTI KEEL

NÄIDUSTUS KASUTAMISEKS

Toodet CHANG Medium *In Situ* võib kasutada järgmiste eesmärkidele:

- Lootevedeliku rakkude primaarne kultuurimine
- Tööstetud lootevedeliku rakkude kasvatamine
- Tahke lootekode koorioni hattude proovist

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

SEADME KIRJELDUS

CHANG Medium *In Situ* töötati välja inimese lootevedeliku rakkude primaarseks kultuurimiseks karüütüpimise ja muude sünneeliste geneetiliste teste tegemise eesmärgil. Koostis on optimeeritud *in situ* metodoloogiateks.

OSAD

| Aminohapped | Soolad ja ioonid |
|------------------------------|-------------------------------------|
| Alanin | Naatriumkloriid |
| Arginiin | Kaaliumpikloriid |
| Asparagiin | Naatriumfosfaat |
| Asparagiinhape | Kaaliumfosfaat |
| Tsüsteen | Kaltsiumkloriid |
| Tsüsttin | Magnesiumsulfaat |
| Glutamiinhape | Kolinikloriid |
| Glutamiini | Magneesiumpikloriid |
| Glütiini | Naatriumseleniit |
| Histidiin | Vasksulfaat |
| Isoleutiini | Raudsulfaat |
| Leutsiin | Tsinksulfaat |
| Lüsiniin | Valgudi, hormonoid ja kasvufaktorid |
| Metioniin | Veiseleote päritolu seerum |
| Fenüülaneliin | Vastundinud veise päritolu seerum |
| Prollin | Fibroplastide kasvufaktor (FGF) |
| Seriniin | Transferriniin |
| Treoniin | Tirotsiniin |
| Trüptofaan | Progesteroon |
| Türosiin | Testosteroon |
| Valiniin | B-östradioli |
| Puhver | Hüdrokortisoon |
| Naatriumvesinikkarbonaat | Nukleinahapped |
| Vitamiinid ja mikroelemendid | Tsüsttiniin |
| Biotin | Deoksüadenosiin |
| Riboflaviin | Deoksüütiidiin |
| Askorbiinhape | Deoksüguanosiin |
| Foolhape | Guanosiin |
| Nikotiinhape | Tümidiiin |
| Pantoteenihape | Uridiin |
| Püridoksaal | Adenosiin |
| Püridoksin | Hüopusantiin |
| Tiamiin | Antioksüdant |
| Vitamiin B12 | Inositol |
| Energia substraadid | Lipohape |
| | Muid |
| | Etüülalkohol |
| pH-indikaator | Putrestesiin |
| Fenolpuunan | |

KVALITEEDI TAGAMINE

STERIILSUS

CHANG Medium *In Situ* toimisel kasutatav seerum on testitud viraalse saaste suhtes CFR ptk 9 osa 113.53 järgi. Samuti on seda testitud mikoplasma suhtes. CHANG Medium *In Situ* on steriliseeritud filterimise teel läbi 0,1-mikronise filtri. Toote CHANG Medium *In Situ* proove on võimalik bakterioloogilise saaste suhtes testitud steriilsuse katseprotokoli järgi, mida on kirjeldatud kehtivas USP steriilsustestis <7>.

ETTEVALMISTUSED KASUTAMISEKS

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

CHANG MEDIUM *In Situ* ALIKVOOTIMINE

- Sulatage CHANG Medium *In Situ* juhiste kohaselt.
- Jaotage aseptiliselt sobiva suurusega alikvootideks ja külmutage uesti.
- Kui olete valmis kasutamiseks, sulatage alikvooidid 37 °C veevannis.

KASUTUSJUHEND

Kultuuride söötmiseks kasutatava söötmie pH peab olema vahemikus 6,8–7,2 (si sööde peab olema kergelt kollakasoranž). pH-d on lihtne kohandada, asetades söötmie ümbes 30 minutiks kergelt lahti keerutud korgiga 5–8% CO₂ inkubaatorisse.

pH lõppnäit peab olema 6,8–7,2.

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

- Tsentrifugige lootevedeliku väikesel kirusel, et rakke kontsenterida.
- Resuspendeerge rakapellet väheses patsiendi enda lootevees. Näiteks võite aspiereerida 10 ml tsentrifugituid lootevedeliku supernatanti 0,5 ml võrra rakapelleti kohale ja resuspendeera. Lisage kontsenteritud rakususpensionile piisavalt toodet CHANG Medium *In Situ*, et igale slaidile oleks vähimalik kanda 0,5 ml (kokku 4 slaidi), või 2 ml rakukasvatuspuudeli kohta.
- Inkubeerge kultuure segamatult temperatuuril 37 °C 5–8% CO₂ keskkonnas.
2. päeval katke kultuurid üle 2 ml tooteaga CHANG Medium *In Situ*.
- 4–5 päeva järel tuleb kontrollida kultuuride kasvu. Kasvu tuvastamisel tuleb kultuure toita. Toitke kultuure, eemaldades kogu kultuuri supernatandi ja asendades selle 2 ml värske CHANG Medium *In Situ*. Seejärel on soovitatav toita kultuure iga 2 päeva järel.
- Kontrollige kultuuride kasvu 5. päeval või pärast seda ning koguge, kui tuvastate piisavad koloniodid.
- Parimad tulenedused saavutatakse kultuuride toitmisel tooteaga CHANG Medium *In Situ* üks päev enne kogumist.

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

Rakkude töstmiseks tõötlekud kultuure trüpsiiniga (või pronaasiiga vms) nagu tavapärasel rakkude kasvatamisel tavasilises söötmes. Proteaseiga töötlemist tuleb hooleks jälgida. CHANG Medium *In Situ* tööldeldud lootevedeliku rakud kipuvad olema proteaseitötluse suhtes tundlikumad kui tavapärases söötmies kasvatatud lootevedeliku rakud. Sellega arvestamiseks tuleb võib-olla muuta protokoli.

Märkus: CHANG Medium *In Situ* sulamisel võib tekkida veidi kaltsiumoksalati ja valgusadet. See sade ei mõjuta teadolevalt toote toimivust.

SÄILITAMINE JA STABIILSUS

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

Kaitseks fluorescentset valguse eest.

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

ETTEVAATUSABINÖÜD JA HOIATUSED

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

Ärge kasutage ühtki pudelit, mille steriilne pakend on riikutud.

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

MAGYAR

FELHASZNÁLÁSI JAVALLATOK

A CHANG Medium *In Situ* a következőkre használható:

- az amniotikus folyadék sejjeinek elsődleges tenyésztése;
- az amniotikus folyadék passzál sejjeinek növekedése;
- szírárd amniotikus szövet mintavételezés chorionbolykhoból.

Ezt a médiument CO₂-inkubátorokban (5–8%-os CO₂-atmoszférával ekvibráltnyűtenyésztések) történő használata tervezett.

TERMÉKISMERTETÉS

A CHANG Medium *In Situ* a humán amniotikus folyadék sejjeinek elsődleges tenyésztésére lett kifejlesztve, kariotípus meghatározásához és más antenatalis genetikai vizsgálatokhoz. Az összetételeit *in situ* módszerekkel optimalizálták.

ÖSSZETEVŐK

| Aminosavak | Sók és iónok |
|------------------------------|-------------------------------------|
| Alanin | Nátrium-klorid |
| Arginin | Kálium-klorid |
| Asparagiin | Naatrium-foszfát |
| Asparagiinhape | Kaaliumpiklorid |
| Tsüsteen | Kaltsiumklorid |
| Tsüsttin | Magnesiumsulfaat |
| Glutamiinhape | Kolin-klorid |
| Glutamiini | Magneesiumpiklorid |
| Glütiini | Naatriumseleniit |
| Histidiin | Vasksulfaat |
| Isoleutiini | Raudsulfaat |
| Leutsiin | Tsinksulfaat |
| Lüsiniin | Valgudi, hormonoid ja kasvufaktorid |
| Metioniin | Veiseleote päritolu seerum |
| Fenüülaneliin | Vastundinud veise päritolu seerum |
| Prollin | Fibroplastide kasvufaktor (FGF) |
| Seriniin | Transferriniin |
| Treoniin | Transferriniin |
| Trüptofaan | Progesteron |
| Türosiin | Tesztoszteron |
| Valiniin | B-östradioli |
| Puhver | Hüdrokortison |
| Naatriumvesinikkarbonaat | Nukleinahapped |
| Vitamiinid ja mikroelemendid | Tsüsttiniin |
| Biotin | Deoksüadenosiin |
| Riboflaviin | Deoksüütiidiin |
| Askorbiinhape | Deoksüguanosiin |
| Foolhape | Guanosiin |
| Nikotiinhape | Tümidiiin |
| Pantoteenihape | Uridiin |
| Püridoksaal | Adenosiin |
| Püridoksin | Hüopusantiin |
| Tiamiin | Antioksüdant |
| Vitamiin B12 | Inositol |
| Energia substraadid | Lipohape |
| | Muid |
| | Etüülalkohol |
| pH-indikaator | Putrestesiin |
| Fenolpuunan | |

MINŐSÉGBIZTOSÍTÁS

STERILITÁS

A CHANG Medium *In Situ* előállításához használt szérum víruszennyeződését a CFR 9. címének 113.53 része szerint vizsgálták. A médiument mikoplázmaszennyeződését megvizsgálták. A CHANG Medium *In Situ* sterilizálása 0,1 mikronos szűrőn át történő szűréssel történt. A CHANG Medium *In Situ* mintájára a jelenlegi Amerikai Gyógyszerkönyv sterilitási vizsgálatában <7> leírt sterilításvizsgálati protokoll követében teszteltek a lehetséges bakteriológiai szennyeződésre.

ELŐKÉSZÍTÉS A FELHASZNÁLÁSRÁ

- Olvassa fel gyorsan a CHANG Medium *In Situ* médiument az üveg 37 °C-os vízfürdőben történő forgatásával.
- Szükség esetén hozzádadhat antibiotikumot.

A CHANG MEDIUM *In Situ* SZÉTOSZTÁSA

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

HASZNÁLATI UTASÍTÁS

A tenyészetek táplálására szolgáló médium pH-értékének 6,8 és 7,2 között kell lennie (azaz a médiumban enyhén sárgás-lazacszínűnek kell lennie). A pH könnyen beállítható úgy, hogy a médiument 5–8%-os CO₂-inkubátorba teszi körülbelül 30 percre, enyhén meglazított kupakkal.

A végső pH-értéknek 6,8 és 7,2 között kell lennie.

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

- Centrifugálja az amniotikus folyadékot alacsony sebességgel a sejtek koncentrálásházból.
- Szuszpendálja fel újra a sejtpelletet a beteg saját amniotikus folyadékának kis mennyiségeben. Például szívja fel 10 ml centrifugált amniotikus folyadék felülszöjét 0,5 ml-re a sejtpellet fölé, és szuszpendálja fel újra. Adjon elegendő CHANG Medium *In Situ* médiument a koncentrált sejtszuszpenzióhoz úgy, hogy a végső szélesítési térfogat fedőlemezenként 0,5 ml (összesen 4 fedőlemez) vagy flaskánként 2 ml legyen.
- Inkubálja a tenyészeteket zavartalanul 37 °C-on, 5–8%-os CO₂-atmoszférában.
- Árassza el a tenyészeteket a 2. napon 2 ml CHANG Medium *In Situ* hozzáadásával.
- 4–5 nap elteltével ellenőrizni kell a tenyészetek növekedését. A tenyészeteket a növekedés megállapítása után táplálni kell. A tenyészetek táplálásáját támogatóvá váltoítsa el a tenyészet összes felülszöjét, és helyettesítse 2 ml friss CHANG Medium *In Situ* médiummal. Javasoljuk, hogy a tenyészeteket ezután 2 naponta táplálja.
- Ellenőrizze a tenyészetek növekedését az 5. napon vagy azt követően, és amikor elegendő kolónia figyelhető meg, végezze el az összegyűjtést.
- Alegörberedmények úgy érhetők el, ha a tenyészeteket az összegyűjtés előtti napon CHANG Medium *In Situ* médiummal táplálják.

A CHANG Medium *In Situ* felhasználása az amniotikus folyadék passzál sejjeinek növeksztéséhez:

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

Megjegyzés: A CHANG Medium *In Situ* terméken kiolvashatás közben kalcium-oxálát és fehérjeüledék képződhet. Nem ismert, hogy ezek az üledékek befolyásolnák a termék teljesítményét.

TÁROLÁS ÉS STABILITÁS

A CHANG Medium *In Situ* médiument tárolja fagyasszta, –10 °C-on. A fel nem használt CHANG Medium *In Situ* újra lefagyasztatható, vagy 2 és 8 °C közötti hőmérsékleten tárolható.

Védje a fluoreszcens fénytől.

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

ÓVINTÉZKEDÉSEK ÉS FIGYELEMZETÉSEK

Ezt a terméket azon eljárásokban készít személyzet általi felhasználásra szánták, amelyek során a termék alkalmazása javallott.

Ne használjon olyan üveget, amelynek a steril csomagolása megsérült.

Ne használja a CHANG Medium *In Situ* médiument a címkén feltüntetett lejáratú időn túl.

LITUVIŲ K.

NAUDOJIMO INDIKACIJA

„CHANG Medium In Situ“ galima naudoti šioms paskirtims:
 1. amniono skysčio laštelių priminei kultūrai;
 2. augmentin perkeltais amniono skysčio laštelių;
 3. tvario amniono audiniui, gautam paėmus chorioninių išaugų (gaurelių) mėginius.

Ši terpé buvo sukurta naudoti CO_2 inkubatoriuose (laštelių kultūros pusiausvyros būsenai pasiekti naudojant 5-8 % CO_2 atmosfera).

TAISO APRAŠYMAS

„CHANG Medium In Situ“ terpé buvo sukurta žmogaus amniono skysčio laštelių priminei kultūrai ir yra skirta naudoti atliekant kariotipavimą ir kitą prenatalinį genetinį tyrimą. Ši formulė buvo optimizuota *in situ* metodologijoms.

SUDEDAMOSIOS DALYS

| | |
|-----------------------------|--|
| Aminorūgštys | Druskos ir ionai |
| Alaninas | Natrio chloridas |
| Argininas | Kalio chloridas |
| Asparaginas | Natrio fosfatas |
| Aspartik rūgštis | Kalio fosfatas |
| Cisteinas | Kalcio chloridas |
| Cistinas | Magnio sulfatas |
| Glutamo rūgštis | Cholino chloridas |
| Glutaminas | Magnio chloridas |
| Glicinės | Natrio selenitas |
| Histidinas | Vario sulfatas |
| Izoleucinės | Geležies sulfatas |
| Leucinės | Cinko sulfatas |
| Lizinės | Baltymai, hormonai ir augimo faktoriai |
| Metioninės | Jaučio embronio krauko serumas |
| Fenilalaninas | Jaučio naujagimio krauko serumas |
| Prolinas | Jaučio naujagimio krauko serumas |
| Serinas | Jaučio naujagimio krauko serumas |
| Treoninas | Fibroblasto augimo faktorius (FGF) |
| Triptofanas | Transferinas |
| Tirozinės | Insulinės |
| Valinės | Progesteronas |
| Buferinas tirpalas | Testosteronas |
| Natrio bikarbonatas | B-estradiolis |
| Vitaminai ir mikroelementai | Hidrokortizonas |
| Biotinas | Nukleino rūgštys |
| Riboflavinas | Citidinas |
| Aksborūgštis | Deoksiadenozinas |
| Folio rūgštis | Deoksiditinas |
| Nikotino rūgštis | Deoksiguanozinas |
| Pantoteninė rūgštis | Guanozinės |
| Pridoksinas | Timidinas |
| Tiaminas | Uridinas |
| Vitaminas B12 | Adenozinės |
| Energetiniai substratai | Hipoksantinas |
| Glukozė | Antioksidantas |
| Inozitolis | Antioksidantas |
| Piruvatas | Lipo rūgštis |
| pH indikatorius | Kita |
| Fenolio raudonasis | Etilo alkoholis |
| | Putrescinas |

KOKYBĖS UŽTIKRINIMAS

STERILUMAS

„CHANG Medium In Situ“ terpés gamyboje naudotas serumas buvo patikrintas dėl užteršimo virusais pagal CFR 9 antraštinę dalį, 113.53 dalį. Jis taip pat buvo patikrintas, ar nėra mikoplazmos užteršimo. „CHANG Medium In Situ“ terpé yra steriliizuota išfiltravus per 0,1 μ filtraną. „CHANG Medium In Situ“ terpés mėginių yra ištiriami dėl galimo užteršimo bakterijomis, laikantis sterilumo tyrimo protokolo, kuris apibūdintas pagal šiuo metu patvirtintą Jungtinii Valstijų farmakopejos sterilumo testą <71>.

PARUOŠIMAS NAUDOTI

1. Atšildykite „CHANG Medium In Situ“ terpé, greitai sukdami buteliuką 37 °C temperatūros vandens vonelėje.
 2. Jei pageidaujama, galima pridėti antibiotikų.

„CHANG MEDIUM In Situ“ TERPÉS LAŠINIMAS

- Atšildykite „CHANG Medium In Situ“ terpé pagal nuordymus.
- Aseptiškai paskirstykite į patogaus naudoti dydžio alikvitines dalis ir pakartotinai užšaldykite.
- Kai būsite pasirengę naudoti, atšildykite alikvitines dalis 37 °C temperatūros vandens vonelėje.

NAUDOJIMO NURODYMAI

Kultūroms maitinti naudojamos terpés rūgštungumas turi būti pH 6,8-7,2 (t. y. terpé turi būti šiek tiek gelsvai lašinės spalvos). pH galima lengvai pakoreguoti terpé apie 30 minučių palaiant 5-8 % CO_2 inkubatoriuje su šiek tiek prasutu dangteliu.

Galutinis pH turi būti 6,8-7,2.

„CHANG Medium In Situ“ terpés naudojimas pirminėms laštelių kultūroms: *in situ* metodologijos

- Centrifugukite amniono skystį nedideliu greičiu, kad koncentruotumėte laštelių.
- Resuspendumokite lastelės granulę nedideliamė kiekį pacientės amniono skysčio. Pavyzdiui, siurbite 10 ml supernatanto iš centrifuguoto amniono skysčio, palikdami 0,5 ml virš lastelės granulės, ir resuspendumokite. Pakankama kiekij „CHANG Medium In Situ“ terpés ilaišinkite į koncentruotą lastelių suspensiją, kad būtu pasiekta galutinis lėkštės tūris – 0,5 ml vienam dengiamajam stiklėliui (iš viso – 4 dengiamieji stiklėliai) arba 2 ml vienai kolbelei.
- Kultūras netrukdomai inkubuokite 37 °C temperatūroje 5-8 % CO_2 atmosferoje.
- 2-aą dieną apsemkite kultūras, pridėdami 2 ml „CHANG Medium In Situ“ terpés.
- Po 4-5 dienų kultūras reikia patikrinti, ar auga. Pastebėjus, kad kultūros auga, jas reikia maitinti. Maitinkite kultūras pašalindami visą kultūros paviršinius sluošnį ir pakeisdami terpę į 2 ml šviesios „CHANG Medium In Situ“ terpés. Po to kultūras rekomenduojama maitinti kas 2 dienas.
- 5-ą dieną arba po 5 dienų patikrinkite kultūry augimą ir aptikę pakankamai kolonių laštelių surinkite.
7. Geriausia rezultatu pasiekiant kultūras maitinant „CHANG Medium In Situ“ terpėje, likus dienai iki kultūrų émimo.

„CHANG Medium In Situ“ terpés naudojimas auginant perkeltas amniono skysčio laštelių:

Norédami perkelti laštelių, apdrozdite kultūras trypsinu (arba pronasai ar pan.), kaip iprasta auginant laštelių išprastinėje terpėje. Tačiau proteazés procedūrą reikia atidžiai stebėti. „CHANG Medium In Situ“ terpėje užaugintos amniono skysčio laštelių yra jautresnės proteazés procedūrai nei amniono skysčio laštelių, užaugintos išprastinėje terpėje. Gali prireikiti pakeisti protokolą, kad galutumėte atsižvelgti į šį faktą.

Pastaba. Atitirpinus „CHANG Medium In Situ“ terpé gali susidaryti tam tikrų kalcio oksalato ir baltymų nuosėdai. Nežinoma, ar šios nuosėdos turi įtakos produktu veikimui.

LAIKYMAS IR STABILUMAS

Laikykite „CHANG Medium In Situ“ terpę užšaldytą -10 °C temperatūroje. Nenaudotą „CHANG Medium In Situ“ terpę galima pakartotinai užšaldyti arba laikyti atšildytą 2-8 °C temperatūroje.

Saugoti nuo fluorescencinių spindulių.

Konkrečios galutinimo pabaigas datos ieškokite buteliuko etiketeje. „CHANG Medium In Situ“ terpę galima pakartotinai užšaldyti daugiausiai 2 kartus ir laikyti atšildytą 2-8 °C temperatūroje 14 dienų (jei savybiés lieka nepakitusios). Nerekomenduojama laikyti ilgiau kaip 14 dienų.

ATSARGUMO PRIEMONĖS IR ISPĖJIMAI

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

Nenaudokite produkto, jei pažeista sterili buteliuko pakuočė.

Nenaudokite „CHANG Medium In Situ“ terpés pasibaigus etiketėje nurodytai galutinimo pabaigos datai.

TÜRKÇE

KULLANIM ENDİKASYONU

CHANG Medium In Situ şu uygulamalar için kullanılabilir:

- amniyotik sıvı hücrelerinin primer kültürü
- pasaj yapılmış amniyotik sıvı hücrelerini üretime
- kordonik villus öneklemedesinden soldı amniyotik doku.

Bu sıvıt CO_2 inkubatörlerinde (%5 - %8 CO_2 atmosferinde dengelenmiş kültürler) kullanılmak üzere tasarlanmıştır.

CİHAZ TANIMI

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

BİLEŞENLER

| Amino Asitler | Tuzlar ve Iyonlar |
|-------------------------------|--|
| Alanin | Sodyum Klorür |
| Arjinin | Potasyum Klorür |
| Asparajin | Sodyum Fosfat |
| Aspartik Asit | Potasyum Fosfat |
| Sistein | Kalsiyum Klorür |
| Sistin | Magnezyum Sulfat |
| Glutamik Asit | Kolin Klorür |
| Glutamin | Magnezyum Klorür |
| Glisin | Sodyum Selenit |
| Histidin | Kuprik Sulfat |
| Izolisin | Ferröz Sulfat |
| Lisin | Çinko Sulfat |
| Lizin | Proteinler, Hormonlar ve Büyüme Faktörleri |
| Metyonin | Fetal Sığır Serumu |
| Fenilalanin | Yenidoğan Sığır Serumu |
| Prolin | Fibroblast Büyüme Faktörü (FGF) |
| Serin | Transferrin |
| Treonin | İnsülin |
| Triptofan | Progesteron |
| Tirozin | Testosteron |
| Valin | B-Estradiol |
| Tampon | Hidrokortizon |
| Sodyum Bikarbonat | Nükleik asitler |
| Vitaminler ve eser elemanları | Sitidin |
| Biotin | Deoksiadenozin |
| Riboflavin | Deoksiditidin |
| Askorbik Asit | Deoksiguanozin |
| Folik Asit | Pantoteničik Asit |
| Nikotinik Asit | Guanozin |
| Pantoteničik Asit | Timidin |
| Piridoksal | Üridin |
| Piridoksin | Tiyamin |
| Citidinas | Adenozin |
| Deoksiadenozinas | Hipoksantin |
| Deoksiditinas | Antioksidan |
| Deoksiguanozinas | Tiyoktik Asit |
| Guanozinės | Inositol |
| Timidinas | Düömerler |
| Uridinas | Etil Alkol |
| Adenozinės | Putresin |
| Hipoksantinas | Fenol Kirmizi |

KALİTE GÜVENCE

STERİLİTE

CHANG Medium In Situ üretiminde kullanılan serum CFR Başlik 9 Kism 113.53 uyarınca viral kontaminasyon için test edilmiştir. Ayrıca mikoplazma kontaminasyonu için taraması da edilmiştir. CHANG Medium In Situ içinde bütyütülen amniyotik sıvı hücreleri geleneksel vasatta bütyütülenlerin göre proteaz tedavisi daha daryar olma eğilimindedir. Protokolünüz bunu hesaba alacak şekilde değiştirmek gerekebilir.

SAKLAMA VE STABİLİTE

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

Floresans işkanın koruyun.

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

ÖNLEMLER VE UYARILAR

Bu cihazın, cihaz kullanımının amaçlanması olduğu belirtilen uygulamaların dahil olduğu işlemler konusunda etkili personelce kullanılması amaçlanmıştır.

Steril ambalajın olumsuz etkili olduğu herhangi bir şeşyi kullanmayın.

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

KULLANMA TALİMATI

Kültürleri beslemek için kullanılan sıvatin pH degeri 6,8 - 7,2 olmalıdır (yani sıvıt hafif sarımsı pembe olmalıdır). pH degeri sıvıt kapağı hafifçe gevşetilmiş olarak yaklaşık 30 dakika boyunca %5 - %8 CO_2 inkubatöründe yerleştirerek kolayca ayarlanabilir.

Son pH 6,8 - 7,2 olmalıdır.

Primer Kültürler için CHANG Medium In Situ 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 santrifüjlenmiş 10 ml amniyotik sıvının süpernatansı hücre pelletinin 0,5 ml üzerine kadar aspire edin ve tekrar süspansiyon haline getirin. Konsantr hücre süspansiyonu lamel başına 0,5 ml (toplamlı 4 lamel) veya flasket başına 2 mL olacak şekilde son plakalama hacmini münkün kılmaq üzere yeterli CHANG Medium In Situ eklevin.
- Kültürleri ellemelerde 37°C %5 - %8 CO_2 atmosferi altında inkubé edin.
- Kültürleri 9' 2'de 2 mL CHANG Medium In Situ ekleyle tamamen sıvıyla örtün.
- Kültürlerin 4 - 5 günde sonraki üretme açısından kontrol edilmesi gereklidir. Kültürler üreme gözlemlendikten sonra beslenmelidir. Kültürler tüm kültür süpernatansını alıp yerine 2 mL yeni CHANG Medium In Situ kojarak besleyin. Kültürlerin bundan sonra 2 günde bir beslenmesi önerilir.
- Kültürler 5. günde veya sonrasında üretme için kontrol edin ve yeterli koloni gözlemlenince toplayın.
- En iyi sonuçlar kültürlerin toplama öncesi günde CHANG Medium In Situ ile beslenmesiyle alınır.

Pasaj Yapılmış Amniyotik Sıvı Hücrelerini Büyütmek için CHANG Medium In Situ kullanılsın:

Hücre pasajı yapmak için kültürler, hücreler geleneksel vasatta üretildikten sonra normalde yapacağımız gibi tripsin (veya Pronase vs.) muamelesi yapın. Ancak proteaz tedavisi dikkatle izlenmelidir. CHANG Medium In Situ içinde bütyütülen amniyotik sıvı hücreleri geleneksel vasatta bütyütülenlerin göre proteaz tedavisi daha daryar olma eğilimindedir. Protokolünüz bunu hesaba alacak şekilde değiştirmek gerekebilir.

Not: CHANG Medium In Situ ürününde çözme sonrasında bir miktar Kalsiyum Oksalat ve protein presipitatı gelişebilir. Bu presipitatların ürün performansı üzerine bir etkisi bilinmemektedir.

STERİLİTE

CHANG Medium In Situ üretiminde kullanılan serum CFR Başlik 9 Kism 113.53 uyarınca viral kontaminasyon için test edilmiştir. Ayrıca mikoplazma kontaminasyonu için taraması da edilmiştir. CHANG Medium In Situ içinde bütyütülen amniyotik sıvı hücreleri geleneksel vasatta bütyütülenlerin göre proteaz tedavisi daha daryar olma eğilimindedir. Protokolünüz bunu hesaba alacak şekilde değiştirmek gerekebilir.

CHANG MEDIUM In Situ ALIKOTLAMA

- CHANG Medium In Situ ürününü bir 37°C su banyosunda şeşiyi çevreerek hizala çözün.
- İstenirse antibiyotikler eklenebilir.

SLOVENČINA

INDIKÁCIA NA POUŽITIE

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

- primárnu kultiváciu buniek plodovej vody
- rast pasážovaných buniek plodovej vody
- vzorkovanie pevného zárodočného tkaniva z choriových kľuk.

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

POPIS ZARIADENIA

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

ZLOŽKY

| Aminokyseliny | Soli a ióny |
|--------------------------|---------------------------------------|
| alanín | chlorid sodný |
| arginín | chlorid draselný |
| asparagín | fosfát sodný |
| kyselina asparágová | fosforečnan draselný |
| cystein | chlorid väpenatý |
| cystin | síran horečnatý |
| kyselina glutamová | cholin väpenatý |
| glutamín | chlorid horečnatý |
| glycin | seleničitan sodný |
| histidín | síran medenatý |
| izoleucín | síran železnatý |
| leucín | síran zinečnatý |
| lyzin | Bielkoviny, hormóny a rastové faktory |
| metionín | fetálne bovinné sérum |
| fenyłalanín | neonatalné bovinné sérum |
| prolin | fibroblastový rastový faktor (FGF) |
| serín | transferín |
| treonín | inzuulin |
| tryptofán | progesterón |
| tyrozín | testosterón |
| valin | B-estradiol |
| Pufer | hydrokortizón |
| hydrogénuhličitan sodný | Nukleové kyseliny |
| Vitaminy a stopové prvky | cytidín |
| biotín | deoxyadenozín |
| riboflavín | deoxycytidín |
| kyselina askorbová | deoxyguanozin |
| kyselina listová | guanozin |
| kyselina nikotinová | tymidín |
| kyselina pantoténová | uridín |
| pyridoxal | adenozín |
| pyridoxín | hypoxantín |
| tiamín | Antioxidant |
| vitamín B12 | kyselina tioktová |
| Energetické substráty | Iné |
| glukóza | etylalkohol |
| inositol | putrescín |
| pyruvát | |
| Indikátor pH | |
| fenolová červená | |

KONTROLA KVALITY

STERILITA

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

PRÍPRAVA NA POUŽITIE

- CHANG Medium *In Situ* rýchlo rozmrázte vŕtením fľaše vo vodnom kúpeli pri teplote 37 °C.
- Ak chcete, možno pridať antibiotiká.

ALIKVOTOVANIE CHANG MEDIUM *In Situ*

- CHANG Medium *In Situ* rozmrázte podľa pokynov.
- Asepticky ho distribuujte do alkvót v hodennej veľkosti a znova zmraze.
- Alkvóty rozmrázte vo vodnom kúpeli pri teplote 37 °C, keď sú prípravené na použitie.

NÁVOD NA POUŽITIE

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

Výsledné pH musí byť 6,8 – 7,2.

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

- Plodovú vodu odstredte pri nízkej rýchlosťi, aby sa koncentrovali bunky.
- Bunkovú peletu resuspendujte v malom objeme plodovej vody pacientky. Napríklad aspirujte supernatant 10 ml odstredenej plodovej vody na 0,5 ml nad bunkovú peletu a resuspendujte. Pridajte dostatočné množstvo CHANG Medium *In Situ* do koncentrovanej bunkovej suspenzie, aby sa vytvoril konečný plátotavý objem 0,5 ml na každé krycie sličko (celkom 4 krycie sličky) alebo 2 ml na každú fľaštičku.
- Nerušené kultúry inkubujte pri teplote 37 °C v atmosfére 5 % – 8 % CO₂.
- Druhý deň zalejte kultúry pridaním 2 ml CHANG Medium *In Situ*.
- Po 4 až 5 dňoch skontrolujte rast na kultúrach. Kultúry treba príživiť, keď sa spozoruje rast. Kultúry príživte odstránením všetkých supernatantov kultúry a pridaním 2 ml čerstvého CHANG Medium *In Situ*. Potom sa odporúča kultúry príživiť každé 2 dni.
- Rast na kultúrach skontrolujte okolo 5. dňa a vykonajte zber, keď spozorujete dostatočné kolónie.
- Najlepšie výsledky sa dosiahnu, keď sú kultúry príživené CHANG Medium *In Situ* deň pred zberom.

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

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

Poznámka: Po rozmrázení sa v CHANG Medium *In Situ* môžu vytvoriť zrazeniny oxalátu väpenatého a bielkovín. O týchto zrazeninách nie je známe, že by mali vplyv na výkon produktu.

UCHOVÁVANIE A STABILITA

CHANG Medium *In Situ* uchovávajte zmrazené pri teplote -10 °C. Nepoužíte CHANG Medium *In Situ* možno znova zmrzniť a uchovávať pri teplote 2 °C až 8 °C.

Chráňte pred fluorescenčným svetlom.

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

BEZPEČNOSTNÉ OPATRENIA A VAROVANIA

Toto zariadenie je určené na použitie personálom vyskoleným na procedúry, ktoré zahŕňajú aplikáciu, na ktorú je toto zariadenie určené.

Nepoužívajte žiadnu fľašu, ktorej sterilný obal bol narušený.

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

БЪЛГАРСКИ

ПОКАЗАНИЯ ЗА УПОТРЕБА

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

- първична култура на клетки от амниотична течност,
- растящи пасажни клетки от амниотична течност,
- твърда амиониона тъкан от проба на хорионин въси.

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

ОПИСАНИЕ НА ИЗДЕЛИЕТО

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

КОМПОНЕНТИ

| Аминокиселини | Соли и иони |
|---------------------------|--------------------------------------|
| Аланин | Натриев хлорид |
| Аргинин | Калиев хлорид |
| Аспарагин | Натриев фосфат |
| Киселана аспарагова | Калиев фосфат |
| Цистein | Калиев хлорид |
| Киселана глутамова | Магнезиев суфат |
| Глутамин | Холин хлорид |
| Гистидин | Магнезиев хлорид |
| Изолеуцин | Натриев селенит |
| Леуцин | Меден суфат |
| Лизин | Железен суфат |
| Метионин | Цинков суфат |
| Фенилаланин | Протеини, хормони и растежни фактори |
| Пролин | Фетален говедки serum |
| Треонин | Фибробластен растежен фактор (FGF) |
| Триптопан | Трансферин |
| Тирозин | Фетален говедки serum на новородено |
| Валин | Инсулин |
| Буфер | Прогестерон |
| Натриев бикарбонат | Тестостерон |
| Витамиини и микроелементи | В-страндиол |
| Биотин | Хидрокортизон |
| Рибофлавин | Нуклеинови киселини |
| Аскорбинова киселина | Цитидин |
| Фолиева киселина | Дезоксиаденозин |
| Никотинова киселина | Дезоксицитидин |
| Пантотенова киселина | Дезоксигуанозин |
| Пиридоксан | Гуанозин |
| Пиридоксин | Тимидин |
| Тиамин | Уридин |
| Витамин B12 | Аденозин |
| Енергийни субстрати | Хипоксантин |
| Глюкоза | Антиоксидант |
| Иноцитол | Тиоктова киселина |
| Пиуроват | Други |
| pH индикатор | Етилов алкохол |
| Фенол, червен | Путресцин |

КОНТРОЛ НА КАЧЕСТВОТО

СТЕРИЛНОСТ

Серумът, използван при производството на CHANG Medium *In Situ*, е тестван за вирусна контаминация

съгласно CFR Раздел 9 Част 113.53. Той също така е подложен на скрининг за микопласмена контаминация. CHANG Medium *In Situ* е стерилизирана чрез филтрация през филтер с 0,1 микрона. Проби от CHANG Medium *In Situ* са тествани за възможна бактериологична контаминация съгласно протокола за тестване за стерилен, описан в актуалния тест за стерилен по USP <71>.

ПОДГОТОВКА ЗА УПОТРЕБА

- Разразете CHANG Medium *In Situ* бързо, като разлягате с кръгов движение бутилката във водна баня с температура 37 °C.

По желание могат да бъдат добавени антибиотики.

АЛИКВОТИРАНЕ НА CHANG MEDIUM *In Situ*

- Разразете CHANG Medium *In Situ* съгласно инструкциите.
- Разпределете асептично в аликвотни части с подходящ обем и разразете отново.

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

УКАЗАНИЯ ЗА УПОТРЕБА

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

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

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

- Центрофугирайте амниотична течност при ниска скорост, за да концентрирате клетките.
- Ресуспендирайте пелетата от клетки в малък обем амниотична течност от самия пациент. Напри мер аспирирайте супернатанта на 10 ml центрофугирана амниотична течност до 0,5 ml над пелетата от клетки и ресуспендирайте. Добавете достатъчно CHANG Medium *In Situ* към концентрираната суспензия от клетки, за да остане окончателен обем за нанасяне от 0,5 ml на покривно стъкло (общо 4 покривни стъклца), или 2 ml на слайд-флакон.
- Инкубирайте културите в покой при 37 °C, 5 %-8 % CO₂ атмосфера.
- В ден 2 запейте културите, като добавите 2 ml CHANG Medium *In Situ*.
- След 4 до 5 дни културите трябва да бъдат проверени за растеж. След като бъде установен растеж, културите трябва да се захранват. Хранете културите, като отстранявате целия супернатант на културата и го заменяте с 2 ml прясна CHANG Medium *In Situ*. Препоръчва се културите да се захранват на всеки 2 дни след това.
- Проверете културите за растеж във или след ден 5 и съберете, когато се наблюдават достатъчно колонии.
- Най-добри резултати се постигат, когато културите се захранват с CHANG Medium *In Situ* в деня преди събирането.

Използване на CHANG Medium *In Situ* за растеж на пасажни клетки от амниотична течност:

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

Забележка: При разразяване в CHANG Medium *In Situ* може да се образува известно количество калциев оксалат и протеинови преципитати. Няма данни тези протеинови преципитати да влияят върху ефективността на продукта.

СЪХРАНЕНИЕ И СТАБИЛНОСТ

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

Пазете от флуоресцентна светлина.

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

ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ И ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

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

Не използвайте бутилка, чиято стерилна опаковка е нарушена.

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

Hrvatski

Indikacije za upotrebu

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

- primarnu kulturu stanica amnijske tekućine
- uzgoj supuktiviranih stanica amnijske tekućine
- kruto amnijsko tkivo dobiveno biopsijom korionskih resica.

Ovaj medij osmislen je za upotrebu u CO_2 inkubatorima (kulture uravnotežene atmosferom s 5% – 8% CO_2).

Opis proizvoda

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

Komponente

| Aminokeline | Soli i ioni |
|---------------------------------|-------------------------------------|
| Alanin | Natrijev klorid |
| Arginin | Kalijev klorid |
| Asparagin | Natrijev fosfat |
| Aspartatna kiselina | Kalijev fosfat |
| Cistein | Kalcijev klorid |
| Cistin | Magnijeov sulfat |
| Glutamatna kiselina | Kolinjev klorid |
| Glutamin | Magnijeov klorid |
| Glicin | Natrijev selenit |
| Histidin | Bakrov sulfat |
| Izoleucin | Željezov sulfat |
| Leucin | Cinkov sulfat |
| Lizin | Proteini, hormoni i čimbenici rasta |
| Metionin | Fetalni govedi serum |
| Fenilalanin | Serum novorodenje teladi |
| Prolin | Fibroblastni čimbenik rasta (FGF) |
| Serin | Transferrin |
| Treonin | Inzulin |
| Triptofan | Progesteron |
| Tirozin | Testosteron |
| Valin | B-estradiol |
| Pufet | Hidrokortizon |
| Natrijev hidrogenkarbonat | Nukleinske kiseline |
| Vitamini i elementi u travozima | Citidin |
| Biotin | Deoksadenozin |
| Riboflavin | Deoksicitidin |
| Askorbinska kiselina | Deoksigvanozin |
| Folna kiselina | Gvanozin |
| Nicotinatna kiselina | Timidin |
| Pantotenska kiselina | Uridin |
| Piroksal | Adenozin |
| Pirodoksin | Hipoksantin |
| Tijamin | Antioksidans |
| Vitamin B12 | Lipoinska kiselina |
| Energetski supstrati | Ostalo |
| Glukoza | Etinski alkohol |
| Inozitol | Putrescin |
| Piruvat | |
| pH indikator | |
| Fenol crveno | |

Osiguranje kvalitete

Sterilnost

Serum koji se koristi za proizvodnju proizvoda CHANG Medium *In Situ* testiran je na kontaminaciju virusima u skladu sa Zakonom o saveznim propisima SAD-a (CFR), Glava 9., dio 113.53. Uz to, testiran je i na kontaminaciju mikoplazmom. CHANG Medium *In Situ* steriliziran je filtracijom kroz filter od 0,1 mikron. Uzorci proizvoda CHANG Medium *In Situ* testirani su na moguću bakteriološku kontaminaciju nakon provedbe protokola testiranja sterilnosti koji je opisan u važećem testu sterilnosti u skladu s Farmakopejom Sjedinjenih Američkih Država, USP <7>.

Priprema za upotrebu

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

Alkvotiranje proizvoda CHANG Medium *In Situ*

- Odmrznuti proizvod CHANG Medium *In Situ* u skladu s uputama.
- Aseptički raspodjeliti u alkvote odgovarajućih veličina i ponovo zamrznuti.
- Odmrznuti alkvote u vodenoj kupelji temperiranoj na 37 °C kada ih želite upotrijebiti.

Upute za upotrebu

pH vrijednost medija koji se koristi za hranjenje kultura mora biti između 6,8 i 7,2 (tj. medij mora biti žučastoružičaste boje). pH se može jednostavno prilagoditi postavljanjem medija u inkubator s 5% – 8% CO_2 u posudi s lagano odvrnutim poklopcom na otprilike 30 minuta.

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

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

- Centrifugirati amnijsku tekućinu pri maloj brzini kako bi se stanice koncentrirale.
- Obnoviti suspenziju taloga stanica u malom volumenu pacijentičine vlastite amnijske tekućine. Na primjer, aspirirati supernatant 10 ml centrifugirane amnijske tekućine do razine od 0,5 ml iznad taloga stanica i obnoviti suspenziju. Dodati odgovarajući količinu proizvoda CHANG Medium *In Situ* koncentriranoj suspenziji stanica kako bi se postigao konačan volumen nasadivanja od 0,5 ml po pokrovnom stakalu (ukupno 4 pokrovna stakala) ili od 2 ml po bočici za kulturu.
- Neometano inkubirati kulture pri 37 °C u atmosferi s 5% – 8% CO_2 .
- Drugi dan natopiti kulture dodavanjem 2 ml proizvoda CHANG Medium *In Situ*.
- Nakon 4 do 5 dana provjeriti rast kultura. Hraniti kulture nakon što se zabilježi rast. Za hranjenje kultura ukloniti sav supernatant kulture i zamjeniti ga s 2 ml svježeg proizvoda CHANG Medium *In Situ*. Preporučuje se da se nakon toga kulture hrane svaka 2 dana.
- Peti dan ili nakon petog dana provjeriti rast kultura i prikupiti ih kada bude zabilježena dovoljna količina kolonija.
- Najbolji rezultati postižu se kada se kulture hrane proizvodom CHANG Medium *In Situ* dan prije prikupljanja.

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

Napomena: nakon odmrzavanja u proizvodu CHANG Medium *In Situ* može doći do taloženja kalcijeva oksalata i proteina. Nije utvrđeno da ti talozi utječu na performanse proizvoda.

Pohrana i stabilnost

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

Zaštiti od fluorescentnog svjetla.

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

Mjere opreza i upozorenja

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

Ne upotrebljavati bocu na kojoj je sterilno pakiranje oštećeno.

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

Malti

Indikazzjoni ghall-užu

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

- il-kultura primaria ta' ċelloli tal-fluwidu amnijotiku
- it-tkabbi ta' ċelloli sottokultivati tal-fluwidu amnijotiku
- tessut amnijotiku solidu minn kampuni ta' villi korjoniċi.

Dan il-midjum jie ddisinjal ghall-užu f'inkubaturi tal- CO_2 (kolturi ekwilibrai b'atmosfera ta' 5%-8% CO_2).

Deskrizzjoni tal-apparat

CHANG Medium *In Situ* jie żviluppat ghall-kultura primaria ta' ċelloli tal-fluwidu amnijotiku uman ghall-užu fid-determinazzjoni tal-karotip u testijet genetiċi orha ta' qabel it-Twelid. Din il-formula għet-optimizzata ghall-metodologji *In Situ*.

Komponenti

| Aċċidi Ammīniċi | Imluha u Joni |
|---------------------------------|--|
| Alanine | Sodium Chloride |
| Arginine | Potassium Chloride |
| Asparagine | Sodium Phosphate |
| Aspartatna kiselina | Potassium Phosphate |
| Cistein | Calcium Chloride |
| Cistin | Magnesium Sulfate |
| Glutamatna kiselina | Choline Chloride |
| Glutamin | Magnesium Chloride |
| Glicin | Sodium Selenite |
| Histidin | Cupric Sulfate |
| Izoleucin | Ferrous Sulfate |
| Leucin | Zinc Sulfate |
| Lizin | Proteini, Ormoni u Fatturi ta' Tkabbi |
| Metionin | Fetal Bovine Serum |
| Fenilalanin | Serum ta' Bovin tal-Twelid |
| Prolin | Fattur ta' Tkabbi tal-Fibroblast (FGF) |
| Serin | Transferrin |
| Treonin | Insulina |
| Triptofan | Progesterone |
| Tirozin | Testosterone |
| Valin | B-Estradiol |
| Pufet | Hydrocortisone |
| Natrijev hidrogenkarbonat | Acidi nuklejici |
| Vitamini i elementi u travozima | Cytidine |
| Biotin | Deoxyadenosine |
| Riboflavin | Deoxycytidine |
| Ascorbinska kiselina | Guanosine |
| Folna kiselina | Thymidine |
| Nicotinatna kiselina | Uridine |
| Pantotenska kiselina | Adenosine |
| Piroksal | Hypoxanthine |
| Pirodoksin | Antiosidant |
| Tijamin | Thiamine |
| Vitamin B12 | Thiocotic Acid |
| Energetski supstrati | Glucose |
| Glukoza | Inositol |
| Inozitol | Pyruvate |
| Piruvat | Indikator tal-pH |
| pH indikator | Phenol Red |
| Fenol crveno | |

Assigurazzjoni tal-kwalità

Sterilità

Serum użat fil-produzzjoni ta' CHANG Medium *In Situ* jie testi għal-kontaminazzjoni minn viruses skont CFR Titolu 9 Taqsima 113.53. Gie skrinjat ukoll ghall-kontaminazzjoni minn mikoplazma. CHANG Medium *In Situ* jiġi sterilizat permezz ta' filtrazzjoni minn ġo filtri ta' daqs 0,1 mikron. Kampuni ta' CHANG Medium *In Situ* jieħi testi għal-kontaminazzjoni batterjologika skont il-protokoli ta' ġtestjar ghall-sterilità deskrift fit-test attwali tal-USP ghall-sterilità <7>.

Preparazzjoni tal-kontaminazzjoni

- Holl iċ-CHANG Medium *In Situ* maljor billi ddawwar il-flikkun f'banjumaria f'temperatura ta' 37°C.
- Jistgħu jażidu l-antibioti jekk ikun mixtieq.

L-užu ta' Alkvotu ta' CHANG Medium *In Situ*

- Holl iċ-CHANG Medium *In Situ* skont l-istruzzjoni.
- Qassam b'mod asettiku f'alkvotu ta' CHANG Medium *In Situ* jiġi tħalli fuq it-tragħi.
- Holl i-alkvoti f'banjumaria f'temperatura ta' 37°C meta jkun se jitużiaw.

Istruzzjoni jietiwar L-užu

Il-PH tal-midjum użat biex jitma' lill-kulturi jidu bejn 6.8-7.2 (jiġifieri l-midjum irid ikun ta' kultur fit-safranis-salman). Il-PH jista' jiġi agġustat b'mod haqqi billi tħalli f'id-

midjum ġo inkubaturi ta' 5%-8% CO_2 .

Il-PH finali trid tkun bejn 6.8-7.2.

L-užu ta' CHANG Medium *In Situ* ghall-kulturi Primarijiet.

Metodologji in situ

- Iċċentrifuga il-fluwidu amnijotiku f'veloċiċità baxxa biex tikkonċentra ċ-ċelloli.
- Erġa ssospendi l-gerbuba ta' ċ-ċelloli f'volum żgħiġi tal-fluwidu amnijotiku uman ghall-żu fid-determinazzjoni tal-karotip u testijet genetiċi orha ta' qabel it-Twelid. Din il-formula għet-optimizzata ghall-metodologji *In Situ*.
- Wara 4 jew 5 ijjem, għandu jiġi ċċekkja kemm kibru l-kulturi. Il-kulturi għall-żu misqija malli jiġi osservati biex jidher. Isqi l-kulturi b'neħha tħalli tħalli f'id-
- Wara 4 jew 5 ijjem, għandu jiġi ċċekkja kemm kibru l-kulturi. Il-kulturi għall-żu misqija malli jiġi osservati numru suffiċċienti ta' koloni.
- Jinkisbu l-ahjar rिज़ultati meta l-kulturi jiġi misqijin kull jumejn. Il-ahjar r-riżultati meta l-kulturi jiġi mħalli.

L-užu ta' CHANG Medium *In Situ* għiġi tħalli f'id-

Subkultivati tal-fluwidu amnijotiku. Għas-sottokultivazzjoni ta' ċ-ċelloli it-trapixx jidher. Madankollu, it-trattament bil-protease għandu jiġi monitorja b'bir-reqqa. Ċelloli tal-fluwidu amnijotiku mħakbara f'CHANG Medium *In Situ* għandhom tħalli tħalli tħalli f'id-

ħall-kontaminazzjoni minn ġiġi normali. Madankollu, it-trattament bil-protease għandu jiġi monitorja b'bir-reqqa. Ċelloli tal-fluwidu amnijotiku mħakbara f'CHANG Medium *In Situ* għandhom tħalli tħalli tħalli f'id-

ħall-kontaminazzjoni minn ġiġi normali. Madankollu, it-trattament bil-protease għandu jiġi monitorja b'bir-reqqa. Ċelloli tal-fluwidu amnijotiku mħakbara f'CHANG Medium *In Situ* għandhom tħalli tħalli tħalli f'id-

ħall-kontaminazzjoni minn ġiġi normali. Madankollu, it-trattament bil-protease għandu jiġi monitorja b'bir-reqqa. Ċelloli tal-fluwidu amnijotiku mħakbara f'CHANG Medium *In Situ* għandhom tħalli tħalli tħalli f'id-

ħall-kontaminazzjoni minn ġiġi normali. Madankollu, it-trattament bil-protease għandu jiġi monitorja b'bir-reqqa. Ċelloli tal-fluwidu amnijotiku mħakbara f'CHANG Medium *In Situ* għandhom tħalli tħalli tħalli f'id-

ħall-kontaminazzjoni minn ġiġi normali. Madankollu, it-trattament bil-protease għandu jiġi monitorja b'bir-reqqa. Ċelloli tal-fluwidu amnijotiku mħakbara f'CHANG Medium *In Situ* għandhom tħalli tħalli tħalli f'id-

ħall-kontaminazzjoni minn ġiġi normali. Madankollu, it-trattament bil-protease għandu jiġi monitorja b'bir-reqqa. Ċelloli tal-fluwidu amnijotiku mħakbara f'CHANG Medium *In Situ* għandhom tħalli tħalli tħalli f'id-

ħall-kontaminazzjoni minn ġiġi normali. Madankollu, it-trattament bil-protease għandu jiġi monitorja b'bir-reqqa. Ċelloli tal-fluwidu amnijotiku mħakbara f'CHANG Medium *In Situ* għandhom tħalli tħalli tħalli f'id-

ħall-kontaminazzjoni minn ġiġi normali. Madankollu, it-trattament bil-protease għandu jiġi monitorja b'bir-reqqa. Ċelloli tal-fluwidu amnijotiku mħakbara f'CHANG Medium *In Situ* għandhom tħalli tħalli tħalli f'id-

ħall-kontaminazzjoni minn ġiġi normali. Madankollu, it-trattament bil-protease għandu jiġi monitorja b'bir-reqqa. Ċelloli tal-fluwidu amnijotiku mħakbara f'CHANG Medium *In Situ* għandhom tħalli tħalli tħalli f'id-

ħall-kontaminazzjoni minn ġiġi normali. Madankollu, it-trattament bil-protease għandu jiġi monitorja b'bir-reqqa. Ċelloli tal-fluwidu amnijotiku mħakbara f'CHANG Medium *In Situ* għandhom tħalli tħalli tħalli f'id-

ħall-kontaminazzjoni minn ġiġi normali. Madankollu, it-trattament bil-protease għandu jiġi monitorja b'bir-reqqa. Ċelloli tal-fluwidu amnijotiku mħakbara f'CHANG Medium *In Situ* għandhom tħalli tħalli tħalli f'id-

ħall-kontaminazzjoni minn ġiġi normali. Madankollu, it-trattament bil-protease għandu jiġi monitorja b'bir-reqqa. Ċelloli tal-fluwidu amnijotiku mħakbara f'CHANG Medium *In Situ* għandhom tħalli tħalli tħalli f'id-

ħall-kontaminazzjoni minn ġiġi normali. Madankollu, it-trattament bil-protease għandu jiġi monitorja b'bir-reqqa. Ċelloli tal-fluwidu amnijotiku mħakbara f'CHANG Medium *In Situ* għandhom tħalli tħalli tħalli f'id-

ħall-kontaminazzjoni minn ġiġi normali. Madankollu, it-trattament bil-protease għandu jiġi monitorja b'bir-reqqa. Ċelloli tal-fluwidu amnijotiku mħakbara f'CHANG Medium *In Situ* għandhom tħalli tħalli tħalli f'id-

ħall-kontaminazzjoni minn ġiġi normali. Madankollu, it-trattament bil-protease għandu jiġi monitorja b'bir-reqqa. Ċelloli tal-fluwidu amnijotiku mħakbara f'CHANG Medium *In Situ* għandhom tħalli tħalli tħalli f'id-

SLOVENŠČINA

INDIKACIJE ZA UPORABO

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

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

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

OPIS PRIPOMOČKA

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

KOMPONENTE

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

ZAGOTAVLJANJE KAKOVOSTI

STERILNOST

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

PRIPRAVA ZA UPORABO

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

ALIKVOTIRANJE MEDIJA CHANG MEDIUM *In Situ*

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

NAVODILA ZA UPORABO

Vrednost pH medija, ki se uporablja za hranjenje kultur, mora biti med 6,8 in 7,2 (tj. medij mora biti rahlo rumenkaste barve lososa). Vrednost pH zlahka prilagodite tako, da medij za 30 minut postavite v inkubator s 5–8 % CO₂ (pokrovček naj bo nekoliko priprt).

Končni pH mora biti 6,8–7,2.

Uporaba medija CHANG Medium *In Situ* za primarne kulture: metodologije *in situ*

1. Centrifugirajte amnijsko tekočino pri nizki hitrosti, da koncentrirate celice.
2. Ponovno suspendirajte celično usedlino v majhnem volumnu bolnične lastne amnijske tekočine. Lahko na primer aspirirate supernatant 10 ml centrifugirane amnijske tekočine na raven 0,5 ml nad celično usedlino in ponovno suspendirajte. V koncentrirano celično suspenzijo dodajte dovolj medija CHANG Medium *In Situ*, da dobite končni volumen za prevleko krovnih stekel 0,5 ml na stekelce (skupaj 4 krovna stekelca) ali 2 ml na stekleničko.
3. Nato se morajo kulture nemoteno inkubirati v atmosferi s 5–8 % CO₂ pri 37 °C.
4. 2. dan kulture zaljite z 2 ml medija CHANG Medium *In Situ*.
5. Po 4 do 5 dneh preverite, ali kulture rastejo. Ko opazite rast, morate kulture nahraniti. Kulture nahranite tako, da odstranite ves supernatant kulture in ga nadomestite z 2 ml svežega medija CHANG Medium *In Situ*. Priporočljivo je, da v nadaljevanju kulture nahranite vsaka 2 dni.
6. Na 5. dan ali po 5. dnevu preverite, koliko so kulture zrasle, in jih spravite, ko opazite dovolj kolonij.
7. Rezultat bo najboljši, če kulture nahranite z medijem CHANG Medium *In Situ* en dan, preden jih spravite.

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

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

Opomba: Ob odtajanju medija CHANG Medium *In Situ* se lahko izloči manjša količina oborin kalcijevega oksalata in beljakovin. Ni znano, da bi ti oborini vplivali na uporabnost izdelka.

SHRANJEVANJE IN STABILNOST

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

Zaščitite pred fluorescenčno svetobo.

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

PREVIDNOSTNI UKREPI IN OPORIZILA

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

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

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