



CHANG Medium D
For Human Amniotic Fluid Cells

Catalog No. T105

For *in vitro* diagnostic use.

Zur *In-vitro*-Diagnostik.

Solo per uso diagnostico *in vitro*.

Para uso diagnóstico *in vitro*.

Pour diagnostics *in vitro*.

Para utilização em diagnóstico *in vitro*.

Για *in vitro* διαγνωστική χρήση.

Pro diagnostické použití *in vitro*.

Til *in vitro*-diagnostik.

In vitro -diagnostiikkaan.

Lietošanai *in vitro* diagnostikā.

Uitsluitend voor *in vitro* diagnostisch gebruik.

Do diagnostyki *in vitro*.

Pentru uz diagnostic *in vitro*.

För *in vitro*-diagnostik.

In vitro diagnostiliseks kasutamiseks.

In vitro diagnostikai alkalmazáshoz.

Skirta *in vitro* diagnostikai.

In vitro diagnostik kullanim için.

Na diagnostické použitie *in vitro*.

Za upotrebu u *in vitro* dijagnostici.

За *in vitro* диагностична употреба.

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.

INDICATION FOR USE

INDICATION FOR USE

CHANG Medium D may be used for the following applications:

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

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

DEVICE DESCRIPTION

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

COMPONENTS

Energy Substrates	pH Indicator	
Inositol	Phenol Red	Guanosine
Glucose		Thymidine
Pyruvate		Uridine
	Salts & Ions	Antioxidant
	Sodium Chloride	Adenosine
	Potassium Chloride	
Buffer	Sodium Phosphate	Proteins, Hormones, and Growth Factors
Sodium Bicarbonate	Calcium Chloride	Thioctic Acid
	Magnesium Sulfate	Insulin
Amino Acids	Choline Chloride	Triiodo Thyronine
Alanine	Sodium Selenite	Progesterone
Arginine		Testosterone
Asparagine		B-Estradiol
Aspartic Acid		Hydrocortisone
Cysteine	Vitamins and trace elements	Bovine calf serum
Glutamic Acid	Folic Acid	Fetal bovine serum
Glutamine	Nicotinic Acid	
Glycine	Riboflavin	
Histidine	Thiamine	Others
Isoleucine	Biotin	Fibroblast growth factor (FGF)
Leucine	Pantothenic Acid	Ethyl Alcohol
Lysine	Vitamin B-12	
Methionine	Ascorbic Acid	
Phenylalanine		
Proline	Nucleic acids	
Serine	Pyridoxine	
Threonine	Cytidine	
Tryptophan	Deoxyadenosine	
Tyrosine	Deoxycytidine	
Valine	Deoxyguanosine	

QUALITY ASSURANCE

STERILITY

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

PREPARATION FOR USE

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

ALIUQUOTING CHANG MEDIUM D

- Thaw CHANG Medium D 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 D 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 D 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 D.
- 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 D. 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 D the day before the harvest.

Use of CHANG Medium D for Primary Cultures: Flask 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 1 mL above the cell pellet and resuspend. Add 4 mL of CHANG Medium D for a total volume of 5 mL per flask.
- Incubate cultures undisturbed at 37°C 5%-8% CO₂ atmosphere.
- Check for growth on day 5. Change medium with fresh CHANG Medium D and harvest if sufficient cell growth is observed.
- Check cultures for growth and completely change medium every day thereafter until sufficient colonies are observed and are ready to harvest.
- Best results are obtained when the cultures are fed with CHANG Medium D the day before the harvest.

Use of CHANG Medium D 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 D tend to be more sensitive to protease treatment than amniotic fluid cells grown in conventional medium. It may be necessary to modify your protocol to take this into account.

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

STORAGE AND STABILITY

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

Protect from fluorescent light.

See bottle label for specific expiration date. CHANG Medium D 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 D beyond the expiration date indicated on the label.

DEUTSCH

INDIKATIONEN

CHANG Medium D kann für die folgenden Anwendungen verwendet werden:

- 1. Primärkultur von Fruchtwasserzellen
- 2. Wachsende passagierte Fruchtwasserzellen
- 3. Die Kultur von Knochenmarkzellen
- 4. Festes Amniongewebe aus einer Chorionzotten-biopsie

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

PRODUKTBESCHREIBUNG

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

INHALTSSTOFFE

Energiesubstrate	pH-Indikator	Guanosin
Inositol	Phenolrot	Thymidin
Glukose		Uridin
Pyruvat	<u>Salze und Ionen</u>	<u>Antioxidans</u>
	Natriumchlorid	Adenosin
<u>Puffer</u>	Kaliumchlorid	
Natriumbicarbonat	Natriumphosphat	<u>Proteine, Hormone und Wachstums-faktoren</u>
<u>Aminosäuren</u>	Calciumchlorid	Thioctansäure
Alanin	Magnesiumsulfat	Insulin
Arginin	Cholinchlorid	Triiodothyronin
Asparagin	Natriumselenit	Progesteron
Asparaginsäure		Testosteron
Cystein	<u>Vitamine und Spurenelemente</u>	Folsäure
Glutaminsäure	Nikotinsäure	Beta-Estradiol
Glutamin	Riboflavin	Hydrokortison
Glycin	Thiamin	Kälberserum
Histidin	Biotin	vom Rind
Isoleucin	Pantothensäure	Fetales Kälberserum
Leucin	Vitamin B-12	
Lysin	Ascorbinsäure	<u>Andere</u>
Methionin		Fibroblasten-wachstumsfaktor
Phenylalanin	<u>Nukleinsäuren</u>	Ethylalkohol
Prolin	Pyridoxin	
Serin	Cytidin	
Threonin	Desoxyadenosin	
Tryptophan	Desoxycytidin	
Tyrosin	Desoxyguanosin	
Valin		

QUALITÄTSSICHERUNG

STERILITÄT

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

VORBEREITUNG

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

ALIQOTIEREN DES CHANG MEDIUM D

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

GEBRAUCHSANWEISUNG

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

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

Verwendung von CHANG Medium D 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 D in die konzentrierte Zellsuspension geben, um das endgültige Überzugvolumen 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 CO₂-Atmosphäre inkubieren.
- 4. Die Kulturen an Tag 2 überspülen, indem 2 ml CHANG Medium D zugegeben werden.
- 5. Nach 4 bis 5 Tagen sollten die Kulturen auf Wachstum überprüft werden. Die Kulturen sollten genährt werden, sobald ein Wachstum festgestellt wurde. Die Kulturen nähren, indem Kulturüberstand entfernt wird und stattdessen 2 ml frisches CHANG Medium D zugegeben werden. Es wird empfohlen, Kulturen danach alle 2 Tage zu nähren.
- 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 D genährt werden.

Verwendung von CHANG Medium D für Primärkulturen: Flaschen-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 1 ml über dem Zellpellet absaugen und resuspendieren. 4 ml CHANG Medium D für ein Gesamtvolumen von 5 ml in die Flasche geben.
- 3. Die Kulturen ungestört bei 37 °C in einer 5–8%igen CO₂-Atmosphäre inkubieren.
- 4. An Tag 5 auf Wachstum prüfen. Das Medium durch frisches CHANG Medium D ersetzen und die Kulturen entnehmen, wenn ausreichend Zellwachstum festgestellt wird.
- 5. Die Kulturen auf Wachstum prüfen und danach jeden Tag das Medium auswechseln, bis ausreichend Kolonien vorhanden sind und entnommen werden können.
- 6. Die besten Ergebnisse werden erreicht, wenn die Kulturen am Tag vor der Entnahme mit CHANG Medium D genährt werden.

Verwendung von CHANG Medium D 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 D kultivierte Fruchtwasserzellen neigen dazu, empfindlicher auf eine Protease-Behandlung zu reagieren als in konventionellem Medium kultivierte Fruchtwasserzellen. Das Protokoll muss ggf. geändert werden, um dies zu berücksichtigen.

Hinweis: Es bilden sich häufig Calciumoxalatkristalle im CHANG Medium D. Es gibt keine Hinweise, dass die Anwesenheit dieser Kristalle die Produktleistung beeinträchtigt.

LAGERUNG UND STABILITÄT

Das CHANG Medium D tiefgekühlt bei -10 °C lagern. Nicht verwendetes CHANG Medium D 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 D kann höchsten 2-mal erneut eingefroren und aufgetaut für 14 Tage bei 2 °C bis 8 °C gelagert werden, ohne dass seine Funktion beeinträchtigt wird. Eine Lagerung für mehr als 14 Tage wird nicht empfohlen.

VORSICHTSMASSNAHMEN UND

WARNHINWEISE

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

Keine Flaschen verwenden, deren Sterilverpackung beschädigt wurde.

CHANG Medium D nicht nach dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum verwenden.

ITALIANO

INDICAZIONI PER L'USO

CHANG Medium D può essere usato per le seguenti applicazioni:

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

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

DESCRIZIONE DEL DISPOSITIVO

CHANG Medium D 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 sia in fiasca che in situ.

COMPONENTI

<u>Substrati energetici</u>	<u>Indicatore di pH</u>	Guanosina
Inositol	Rosso fenolo	Timidina
Glucosio		Uridina
Piruvato	<u>Salz e ioni</u>	<u>Antiossidante</u>
	Cloruro di sodio	Adenosina
<u>Tampone</u>	Cloruro di potassio	
Bicarbonato di sodio	Fosfato di sodio	<u>Proteine, ormoni e fattori di crescita</u>
	Cloruro di calcio	Acido tiotico
<u>Aminoaacidi</u>	Solfato di magnesio	Insulina
Alanina	Cloruro di colina	Triiodotironina
Arginina	Selenito di sodio	Progesterone
Asparagina		Testosterone
Acido aspartico	<u>Vitamine ed elementi in tracce</u>	B-estradiolo
Cisteina	Acido folico	Idrocortisone
Acido glutammico	Glutamina	Siero di vitello
Glutamina	Acido nicotinico	Siero bovino fetale
Glicina	Riboflavina	
Istidina	Tiamina	<u>Altri</u>
Isoleucina	Biotina	Fattore di crescita
Leucina	Acido pantotenico	dei fibroblasti
Lisina	Vitamina B-12	Alcol etilico
Metionina	Acido ascorbico	
Fenilalanina		<u>Acidi nucleici</u>
Prolina		Piridossina
Serina		Citidina
Treonina		Deossiadenosina
Triptofano		Deossicitidina
Tirosina		Deossiguanosina
Valina		

GARANZIA DI QUALITÀ

STERILITÀ

Il siero usato per la produzione di CHANG Medium D 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 D è stato sterilizzato per filtrazione mediante filtro da 0,1 µ. Campioni di CHANG Medium D 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. Scongellare rapidamente CHANG Medium D 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 D IN ALIQUOTE

- 1. Scongellare CHANG Medium D seguendo le istruzioni.
- 2. Distribuire in condizioni asettiche in aliquote di dimensioni appropriate e ricongelare.
- 3. Scongellare le aliquote in bagno d'acqua a 37 °C quando si è pronti a usarle.

ISTRUZIONI PER L'USO

Il pH del terreno usato per arricchire le colture deve essere compreso tra 6,8 e 7,2 (cioè, il terreno deve essere di colore salmone leggermente tendente al giallo). Il pH può essere facilmente regolato ponendo il terreno in un incubatore con CO₂ al 5-8% con il tappo leggermente svitato per circa 30 minuti.

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

Uso di CHANG Medium D per colture primarie: metodologie in situ

- 1. Centrifugare il liquido amniotico a bassa velocità per concentrare le cellule.
- 2. Risospendere il pellet cellulare in una piccola quantità di liquido amniotico della paziente. Ad esempio, aspirare il surnatante di 10 ml di liquido amniotico centrifugato fino a 0,5 ml sopra il pellet cellulare e risospendere. Aggiungere alla sospensione di cellule concentrata una quantità di CHANG Medium D sufficiente a ottenere un volume finale nella piastra di 0,5 ml per ciascun vetrino coprioggetti (totale di 4 vetrini coprioggetti) o 2 ml per ciascuna minifiasca.
- 3. Incubare le colture indisturbate a 37 °C in atmosfera al 5-8% di CO₂.
- 4. Al giorno 2 aggiungere alle colture 2 ml di CHANG Medium D.
- 5. Dopo 4-5 giorni, verificare la crescita delle colture e arricchirle non appena si osserva una crescita. Arricchire le colture rimuovendo tutto il surnatante e sostituendolo con 2 ml di CHANG Medium D fresco. 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 D il giorno prima della raccolta.

Uso di CHANG Medium D per colture primarie: metodologie in fiasca

- 1. Centrifugare il liquido amniotico a bassa velocità per concentrare le cellule.
- 2. Risospendere il pellet cellulare in una piccola quantità di liquido amniotico della paziente. Ad esempio, aspirare il surnatante di 10 ml di liquido amniotico centrifugato fino a 1 ml sopra il pellet cellulare e risospendere. Aggiungere 4 ml di CHANG Medium D per raggiungere un volume totale di 5 ml per fiasca.
- 3. Incubare le colture indisturbate a 37 °C in atmosfera al 5-8% di CO₂.
- 4. Verificare la crescita al giorno 5. Sostituire il terreno con CHANG Medium D fresco e raccogliere se si osserva una crescita cellulare sufficiente.
- 5. Verificare la crescita delle colture e successivamente sostituire completamente il terreno ogni giorno finché non si osservano colonie sufficienti e pronte per la raccolta.
- 6. I risultati migliori si ottengono quando le colture sono arricchite con CHANG Medium D il giorno prima della raccolta.

Uso di CHANG Medium D 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 D sono generalmente più sensibili al trattamento con proteasi di quelle coltivate in terreno convenzionale. In ragione di ciò, potrebbe essere necessario modificare il protocollo.

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

CONSERVAZIONE E STABILITÀ

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

PRECAUZIONI E AVVERTENZE

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

Non usare flaconi la cui confezione sterile sia stata compromessa.

Non utilizzare CHANG Medium D dopo la data di scadenza indicata sull'etichetta.

INDICACIÓN DE USO
El CHANG Medium D se puede usar para las siguientes aplicaciones:

- cultivo primario de células de líquido amniótico,
- expansión de células de líquido amniótico subcultivadas,
- cultivo de células de la médula ósea,
- tejido amniótico sólido (muestreo de vellosidades 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 D 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 de frascos *e in situ*.

COMPONENTES	
Sustratos energéticos	Indicador del pH
Inositol	Rojo de fenol
Glucosa	Sales e iones
Piruvato	Cloruro sódico
Sistemas tampón	Cloruro potásico
Bicarbonato sódico	Fosfato sódico
Aminoácidos	Cloruro cálcico
Alanina	Sulfato magnésico
Arginina	Cloruro de colina
Asparagina	Selenito sódico
Ácido aspártico	Vitaminas y oligoelementos
Cisteína	Ácido fólico
Ácido glutámico	Ácido nicotínico
Glutamina	Riboflavina
Glicina	Tiamina
Histidina	Ácido pantoténico
Isoleucina	Vitamina B-12
Leucina	Ácido ascórbico
Lisina	Otros
Metionina	Factor de crecimiento
Fenilalanina	fibroblástico (FGF)
Prolina	Citidina
Serina	Desoxiadenosina
Treonina	Desoxicitidina
Triptófano	Desoxiguanosina
Tirosina	
Valina	

GARANTÍA DE CALIDAD
ESTERILIDAD
El suero utilizado en la producción del CHANG Medium D 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 D se esteriliza por filtración a través de un filtro de 0,1 µm. Se analizan muestras del CHANG Medium D para detectar la posible contaminación bacteriana según el protocolo analítico de esterilidad descrito en el vigente ensayo de esterilidad <71> de la USP.

PREPARACIÓN PARA EL USO
1. Descongelar rápidamente el CHANG Medium D mediante balanceo del frasco en un baño de agua a 37 °C.
2. Se pueden añadir antibióticos si se desea.

DIVIDIR EN ALÍCUOTAS EL CHANG MEDIUM D
1. Descongelar el CHANG Medium D según las instrucciones.
2. Repartir en alícuotas de tamaño adecuado en condiciones asépticas y volver a congelar.
3. Descongelar las alícuotas en un baño de agua a 37 °C cuando estén listas para su uso.

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

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

Uso del CHANG Medium D 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 D 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 frascoito.
- 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 D.
- 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 D. Se recomienda alimentar los cultivos cada 2 días a partir de ese momento.
- Comprobar el crecimiento de los cultivos a partir del día 5 y cosecharlos cuando se observen suficientes colonias.
- Los mejores resultados se obtienen cuando los cultivos se alimentan con el CHANG Medium D el día antes de la cosecha.

Uso del CHANG Medium D para cultivos primarios: Métodos de frasco

- 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 del líquido amniótico centrifugado hasta 1 ml por encima del sedimento celular y resuspender. Añadir 4 ml del CHANG Medium D hasta un volumen total de 5 ml por frasco.
- Incubar los cultivos sin perturbaciones a 37 °C en una atmósfera con 5-8 % de CO₂.
- Comprobar el crecimiento en el día 5. Cambiar el medio por el CHANG Medium D fresco y cosechar si se observa un crecimiento celular suficiente.
- Comprobar el crecimiento de los cultivos y luego renovar por completo el medio cada día hasta que las colonias alcancen un número suficiente y estén listas para la cosecha.
- Los mejores resultados se obtienen cuando los cultivos se alimentan con el CHANG Medium D el día antes de la cosecha.

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

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

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD
Conservar el CHANG Medium D congelado a -10 °C. El CHANG Medium D no utilizado se puede volver a congelar o conservar a 2-8 °C.

Proteger de la luz fluorescente.

Consultar la fecha de caducidad concreta en la etiqueta del frasco. El CHANG Medium D se puede volver a congelar 2 veces como máximo y conservar descongelado a 2-8 °C durante 14 días sin que resulte afectada 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 está dañado.

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

INDICATION D’UTILISATION
CHANG Medium D peut être utilisé pour les applications suivantes :

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

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

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

COMPOSANTS	
Substrats énergétiques	Indicateur de pH
Inositol	Rouge de phénol
Glucose	Sels et ions
Pyruvate	Chlorure de sodium
Tampón	Chlorure de potassium
Bicarbonato de sodium	Phosphate de sodium
Acides aminés	Chlorure de calcium
Alanine	Sulfate de magnésium
Arginine	Chlorure de choline
Asparagine	Sélénite de sodium
Acide aspartique	Vitamines et oligo-éléments
Cystéine	Ácido fólico
Acide glutámico	Glicine
Glutamine	Histidina
Glycine	Isoleucine
Histidina	Leucine
Isoleucine	Lysine
Leucine	Méthionine
Lysine	Phénylalanine
Méthionine	Prolina
Phénylalanine	Sérine
Prolina	Thréonine
Sérine	Tryptophane
Thréonine	Tyrosine
Tryptophane	Valine
Tyrosine	
Valine	

ASSURANCE QUALITÉ
STÉRILITÉ
Le sérum utilisé dans la fabrication de CHANG Medium D a été testé pour les contaminations virales selon le code des réglementations fédérales CFR Title 9 Part 113.53. Il a été aussi testé pour les contaminations par mycoplasme. CHANG Medium D est stérilisé par filtration avec un filtre de 0,1 µm. Des échantillons de CHANG Medium D sont testés pour une éventuelle contamination bactérienne selon le protocole de test de stérilité décrit dans le test de stérilité courant de la pharmacopée américaine (USP) <71>.

PRÉPARATION
1. Décongeler rapidement CHANG Medium D en agitant le flacon dans un bain-marie à 37 °C.
2. Des antibiotiques peuvent également être ajoutés, le cas échéant.

PRÉPARATION D'ALIQUOTES DE CHANG MEDIUM D
1. Décongeler CHANG Medium D conformément aux instructions.
2. Répartir stérilement en plusieurs aliquotes de taille appropriée et recongeler.
3. Décongeler les aliquotes dans un bain-marie à 37 °C lorsqu'elles sont prêtes à être utilisées.

MODE D'EMPLOI
Le pH du milieu utilisé pour alimenter les cultures doit se situer entre 6,8 et 7,2 (c.-à-d. le milieu doit être de couleur légèrement jaunâtre-saumon). Le pH peut facilement être ajusté en plaçant le tube du milieu dans une étuve à CO₂ (5 à 8 %), le bouchon légèrement dévissé pendant environ 30 minutes.

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

Utilisation de CHANG Medium D pour les cultures primaires : méthodes *in situ*

- Centrifuger le liquide amniotique à faible vitesse pour concentrer les cellules.
- Remettre le culot cellulaire en suspension dans un petit volume du liquide amniotique de la patiente. Par exemple, aspirer le surnageant obtenu en centrifugeant 10 ml de liquide amniotique et remettre le culot en suspension dans 0,5 ml de ce liquide. Ajouter suffisamment de CHANG Medium D à la suspension concentrée des cellules pour obtenir un volume final nécessaire pour 4 lamelles (0,5 ml par lamelle) ou 2 ml par petit flacon de culture.
- Incuber les cultures sans agitation à 37 °C en atmosphère de CO₂ (5 à 8 %).
- Inonder les cultures le deuxième jour en ajoutant 2 ml de CHANG Medium D.
- Au bout de 4 à 5 jours, vérifier la croissance des cultures. Dès qu'une croissance est observée, alimenter les cultures en retirant le surnageant et en le remplaçant par 2 ml de CHANG Medium D frais. Il est recommandé d'alimenter les cultures tous les 2 jours par la suite.
- Vérifier la croissance des cultures à partir du cinquième jour et procéder à la collecte lorsque les cultures ont des colonies de taille suffisante.
- Les meilleurs résultats sont obtenus lorsque les cultures sont alimentées avec CHANG Medium D la veille de la collecte.

Utilisation de CHANG Medium D pour les cultures primaires : méthodes de culture en flacons

- Centrifuger le liquide amniotique à faible vitesse pour concentrer les cellules.
- Remettre le culot cellulaire en suspension dans un petit volume du liquide amniotique de la patiente. Par exemple, aspirer le surnageant obtenu en centrifugeant 10 ml de liquide amniotique et remettre le culot en suspension dans 1 ml de ce liquide. Ajouter 4 ml de CHANG Medium D pour obtenir un volume total de 5 ml par flacon.
- Incuber les cultures sans agitation à 37 °C en atmosphère de CO₂ (5 à 8 %).
- Vérifier la croissance des cultures le cinquième jour. Changer le milieu avec du CHANG Medium D frais et procéder à la collecte lorsqu'une croissance suffisante des cellules est observée.
- Examiner la croissance et changer complètement le milieu tous les jours jusqu'à ce que le nombre des colonies soit suffisant pour la collecte.
- Les meilleurs résultats sont obtenus lorsque les cultures sont alimentées avec CHANG Medium D la veille de la collecte.

Utilisation de CHANG Medium D pour le repiquage des cellules du liquide amniotique :
Pour repiquer les cellules, traiter les cultures avec de la trypsine (ou de la pronase, etc.) comme vous le faites normalement lorsque les cellules sont cultivées dans un milieu conventionnel. Le traitement avec des protéases doit cependant être surveillé avec prudence. Les cellules du liquide amniotique cultivées dans du CHANG Medium D ont tendance à être plus sensibles au traitement protéasique que celles cultivées dans un milieu traditionnel. Il peut être nécessaire de modifier le protocole en conséquence.

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

CONSERVATION ET STABILITÉ
Conservier CHANG Medium D congelé à -10 °C. Les portions non utilisées de CHANG Medium D peuvent être recongelées ou conservées entre 2 et 8 °C.

Protéger de la lumière fluorescente.

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

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

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

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

PORTUGUÊS

INDICAÇÃO DE UTILIZAÇÃO

O CHANG Medium D pode ser utilizado nas seguintes aplicações:

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

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

DESCRIÇÃO DO DISPOSITIVO

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

COMPONENTES	
Substratos energéticos	Tirosina
Inositol	Valina
Glucose	Indicador de pH
Piruvato	Vermelho de fenol
Tampão	Sais e iões
Bicarbonato de sódio	Cloreto de sódio
	Cloreto de potássio
	Fosfato de sódio
Aminoácidos	Cloreto de cálcio
Alanina	Sulfato de magnésio
Arginina	Cloreto de colina
Asparagina	Selenito de sódio
Ácido aspártico	
Cisteína	Vitaminas e oligoelementos
Ácido glutâmico	Ácido fólico
Glutamina	Ácido nicotínico
Glicina	Riboflavina
Histidina	Isolcucina
Leucina	Tiamina
Leucina	Biotina
Lisina	Ácido pantoténico
Metionina	Vitamina B-12
Fenilalanina	Ácido ascórbico
Prolina	
Serina	Ácidos nucleicos
Treonina	Piridoxina
Triptofano	Citidina

GARANTIA DE QUALIDADE ESTERILIDADE

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

PREPARAÇÃO PARA UTILIZAÇÃO

- Descongele o CHANG Medium D rapidamente, girando o frasco em banho-maria a 37 °C.
- Se pretender, pode adicionar antibióticos.

DIVIDIR EM ALÍQUOTAS O CHANG MEDIUM D

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

INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

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

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

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

- Centrifugue o líquido amniótico a baixa velocidade para concentrar as células.
- 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 D 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.
- Incube as culturas sem interferência a 37 °C numa atmosfera de 5%–8% de CO2.
- Inunde as culturas no 2.º dia, adicionando 2 ml de CHANG Medium D.
- 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 D fresco. Recomenda-se que as culturas sejam alimentadas a cada 2 dias daí em diante.
- Verifique o crescimento das culturas no 5.º dia ou após esse dia e proceda à colheita quando se observarem colónias suficientes.
- Os melhores resultados obtêm-se quando as culturas são alimentadas com CHANG Medium D no dia anterior à colheita.

Utilização do CHANG Medium D para culturas primárias: Metodologias em frasco de cultura

- Centrifugue o líquido amniótico a baixa velocidade para concentrar as células.
- Ressuspenda o *pellet* de células num pequeno volume de líquido amniótico da própria doente. Por exemplo, aspire o sobrenadante de 10 ml de líquido amniótico centrifugado até 1 ml acima do *pellet* de células e ressuspenda. Adicione 4 ml de CHANG Medium D para um volume total de 5 ml por frasco.
- Incube as culturas sem interferência a 37 °C numa atmosfera de 5%–8% de CO2.
- Verifique se existe crescimento no 5.º dia. Substitua o meio por CHANG Medium D fresco e efetue a colheita caso se observe um crescimento de células suficiente.
- Verifique o crescimento das culturas e substitua totalmente o meio todos os dias daí em diante até se observarem colónias suficientes prontas para colheita.
- Os melhores resultados obtêm-se quando as culturas são alimentadas com CHANG Medium D no dia anterior à colheita.

Utilização do CHANG Medium D 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 D tendem a ser mais sensíveis ao tratamento com protease do que as células do líquido amniótico que crescem num meio convencional. Pode ser necessário modificar o seu protocolo de modo a ter este facto em consideração.

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

CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE

Conservae o CHANG Medium D congelado a -10 °C. Pode voltar a congelar o CHANG Medium D 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 D 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 D para além do prazo de validade indicado no rótulo.

ΕΛΛΗΝΙΚΑ

ΕΝΔΕΙΞΗ ΧΡΗΣΗΣ

Το CHANG Medium D μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τις παρακάτω εφαρμογές:

- την πρωτογενή καλλιέργεια κυττάρων αμνιακού υγρού
- την ανάπτυξη κυττάρων υποκαλλιεργιών αμνιακού υγρού
- την καλλιέργεια κυττάρων του μυελού των οστών
- τη δειγματοληψία συμπαγούς αμνιακού ιστού από χοριακές λάγνες.

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

ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΗΣ ΣΥΣΚΕΥΗΣ

Το CHANG Medium D αναπτύχθηκε για την πρωτογενή καλλιέργεια ανθρώπινων κυττάρων αμνιακού υγρού για χρήση σε καριοτυποποίηση και άλλες προγεννητικές γενετικές εξετάσεις. Αυτή η σύνθεση έχει βελτιστοποιηθεί τόσο για μεθοδολογίες για μπουκαλάρια όσο και για μεθοδολογίες in situ.

Ενεργειακά υποστρώματα	ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ	
Ινσπότλη	Δείκτης pH	Γουανοσίνη
Γλυκόζη	Ερυθρό της φαινόλης	Θυμιδίνη
Πυροσταφυλικό		Ουριδίνη
Ρυθμιστικό διάλυμα	Άλατα και ιόντα	Αντιοξειδωτικό
Διττανθρακικό νάτριο	Χλωριούχο νάτριο	Αδενosίνη
	Χλωριούχο κάλιο	
	Φωσφορικό νάτριο	Πρωτεΐνες, ορμόνες και αυξητικοί παράγοντες
Αμινοξέα	Χλωριούχο ασβέστιο	Θεοκτικό οξύ
Αλανίνη	Θεικό μαγνήσιο	Ινσουλίνη
Αργινίνη	Χλωριούχος χολίνη	Τριψωδοθρονίνη
Ασπαργίνη	Σεληνικό νάτριο	Προγεστερόνη
Ασπαρτικό οξύ		Τεστοστερόνη
Κυστεΐνη	Βιταμίνες και ιχνοστοιχεία	Β-ιστραδιόλη
Γλουταμικό οξύ	Φυλικό οξύ	Υδροκορτιζόνη
Γλουταμίνη	Νικοτινικό οξύ	Ορός από μικρό μσχάρι
Γλυκίνη	Ριβοφλαβίνη	Ορός από έμβryo βοοειδών
Ιστιδίνη	Θειαμίνη	
Ισολευκίνη	Βιοτίνη	
Λευκίνη	Παντοθενικό οξύ	
Λυσίνη	Βιταμίνη B-12	Άλλα
Μεθειονίνη	Ασκορβικό οξύ	Αυξητικός παράγοντας ινοβλαστών (FGF)
Φαινυλαλανίνη		Αιθυλική αλκοόλη
Προλίνη	Νουκλεϊκά οξέα	
Σερίνη	Πυριδοξίνη	
Θρεονίνη	Κυτιδίνη	
Τρυπτοφάνη	Δεοξυαδενosίνη	
Τυροσίνη	Δεοξυκυτιδίνη	
Βαλίνη	Δεοξυγουανοσίνη	

ΔΙΑΣΦΑΛΙΣΗ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ

ΣΤΕΙΡΟΤΗΤΑ

Ο ορός που χρησιμοποιείται στην παραγωγή του CHANG Medium D έχει ελεγχθεί για ιογενή μόλυνση σύμφωνα με το CFR Title 9 Part 113.53. Έχει επίσης εξεταστεί για μόλυνση από μυκόπλασμα. Το CHANG Medium D έχει αποστειρωθεί μέσω διήθησης με φίλτρο 0,1 μm. Δείγματα του CHANG Medium D ελέγχονται για πιθανή βακτηριολογική μόλυνση, ακολουθώντας τα πρωτόκολλο δοκιμασίας στεριρότητας που περιγράφεται στην τρέχουσα δοκιμασία στεριρότητας κατά USP <71>.

ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΧΡΗΣΗΣ

- Αποψύξτε το CHANG Medium D γρήγορα, περιδινίζοντας τη φιάλη σε υδατόλουτρο θερμοκρασίας 37 °C.
- Μπορείτε να προσθέσετε αντιβιοτικά αν το επιθυμείτε.

ΔΙΑΜΟΙΡΑΣΜΟΣ ΤΟΥ CHANG MEDIUM D ΣΕ ΚΛΑΣΜΑΤΑ

- Αποψύξτε το CHANG Medium D σύμφωνα με τις οδηγίες.
- Διανείμετε, υπό άσηπτες συνθήκες, σε πρακτικό μεγέθους κλάσματα και καταψύξτε τα ξανά.
- Αποψύξτε τα κλάσματα σε υδατόλουτρο θερμοκρασίας 37 °C όταν είστε έτοιμοι να τα χρησιμοποιήσετε.

ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ

Το pH του μέσου που χρησιμοποιείται για τη θρέψη των καλλιεργιών πρέπει να είναι 6,8-7,2 (δηλαδή το μέσο πρέπει να έχει ελαφρώς κίτρινο χρώμα σολομού). Το pH μπορεί να ρυθμιστεί εύκολα, τοποθετώντας το μέσο σε επωαστήρα 5%-8% CO2 με το πάμα ελαφρώς χαλαρό για περίπου 30 λεπτά.

- Το τελικό pH πρέπει να είναι 6,8-7,2.

Χρήση του CHANG Medium D για πρωτογενείς καλλιέργειες: in situ μεθοδολογίες

- Φυγοκεντρίστε το αμνιακό υγρό σε χαμηλή ταχύτητα, για συμπίκνωση των κυττάρων.
- Επαναλάβετε την εναιώρηση του κυτταρικού συσσωματώματος σε μικρό όγκο αμνιακού υγρού της ίδιας της ασθενούς. Για παράδειγμα, αναρροφήστε το υπερκείμενο υγρό από τα 10 mL του φυγοκεντρισμένου αμνιακού υγρού, έως τα 0,5 mL πάνω από το κυτταρικό συσσωμάτωμα και επαναλάβετε την εναιώρηση. Προσθέστε επαρκή ποσότητα CHANG Medium D στο συμπτυκνόμενο κυτταρικό εναιώρημα για να παρασχεθεί τελικός όγκος επίστρωσης 0,5 mL ανά καλπττρίδα (συνολικά 4 καλπττρίδες) ή 2 mL ανά μπουκαλάκι.
- Επωάστε τις καλλιέργειες αδιατάρακτες σε ατμόσφαιρα 5%-8% CO2 στους 37 °C.
- Γεμίστε τις καλλιέργειες τη 2η ημέρα, προσθέτοντας 2 mL CHANG Medium D.
- Μετά από 4 έως 5 ημέρες, οι καλλιέργειες θα πρέπει να ελεγχονται 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 D. Συνιστάται η παροχή θρεπτικού υλικού στις καλλιέργειες κάθε 2 ημέρες από αυτό το σημείο και έπειτα.
- Ελέγξτε την ανάπτυξη των καλλιεργιών την 5η ημέρα, ή μετά από αυτήν, και συλλέξτε όταν παρατηρηθούν επαρκείς αποικίες.
- Τα καλύτερα αποτελέσματα λαμβάνονται όταν οι καλλιέργειες τρέφονται με CHANG Medium D την ημέρα πριν από τη συλλογή.

Χρήση του CHANG Medium D για πρωτογενείς καλλιέργειες: Μεθοδολογίες με μπουκαλάρια

- Φυγοκεντρίστε το αμνιακό υγρό σε χαμηλή ταχύτητα, για συμπίκνωση των κυττάρων.
- Επαναλάβετε την εναιώρηση του κυτταρικού συσσωματώματος σε μικρό όγκο αμνιακού υγρού της ίδιας της ασθενούς. Για παράδειγμα, αναρροφήστε το υπερκείμενο υγρό από τα 10 mL του φυγοκεντρισμένου αμνιακού υγρού, έως τα 1 mL πάνω από το κυτταρικό συσσωμάτωμα και επαναλάβετε την εναιώρηση. Προσθέστε 4 mL CHANG Medium D για συνολικό όγκο 5 mL ανά μπουκαλάκι.
- Επωάστε τις καλλιέργειες αδιατάρακτες σε ατμόσφαιρα 5%-8% CO2 στους 37 °C.
- Ελέγξτε την ανάπτυξη την ημέρα 5. Αλλάζετε το μέσο με φρέσκο CHANG Medium D και συλλέξτε εάν παρατηρηθεί επαρκής κυτταρική ανάπτυξη.
- Ελέγξτε την ανάπτυξη των καλλιεργιών και αλλάξτε πλήρως το μέσο καθημερινά, έως ότου παρατηρηθούν επαρκείς αποικίες και είναι έτοιμες για συλλογή.
- Τα καλύτερα αποτελέσματα λαμβάνονται όταν οι καλλιέργειες τρέφονται με CHANG Medium D την ημέρα πριν από τη συλλογή.

Χρήση του CHANG Medium D για την ανάπτυξη κυττάρων υποκαλλιεργιών αμνιακού υγρού: Για την υποκαλλιέργεια των κυττάρων, επεξεργαστείτε τις καλλιέργειες με θρυψίνη (ή προνάση κ.λπ.) όπως θα κάνατε 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 D

τείνουν να είναι περισσότερο ευαίσθητα στην επεξεργασία με πρωτεάση από τα κύτταρα του αμνιακού υγρού που καλλιεργούνται σε συμβατικά μέσα. Μπορεί να χρειαστεί να τροποποιήσετε το πρωτόκολλό σας για να λάβετε υπόψη αυτή την πληροφορία.

Σημείωση: Στο CHANG Medium D σχηματίζονται συχνά κρύσταλλοι οζαλικού ασβετίου. Η παρουσία αυτών των κρυστάλλων δεν έχει αποδειχθεί ότι προκαλεί οποιαδήποτε αρνητική επίδραση στην απόδοση του προϊόντος.

ΦΥΛΑΞΗ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ

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

- Προστατέψτε το από θφορίζον φως.

Δείτε την ετικέτα της φιάλης για τη συγκεκριμένη ημερομηνία λήξης. Το CHANG Medium D μπορεί να επανακαταψυχθεί το μέγιστο 2 φορές και να φυλαχθεί αποψυγμένο στους 2 °C έως 8 °C για 14 ημέρες, χωρίς να επηρεαστεί η λειτουργία του. Δεν συστήνεται η φύλαξη για διάστημα μεγαλύτερο των 14 ημερών.

ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΕΙΣ

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

Μη χρησιμοποιείτε καμία φιάλη στην οποία έχει παραβιαστεί η ακεραιότητα της αποστειρωμένων συσκευασίας.

Μη χρησιμοποιείτε το CHANG Medium D μετά την παρέλευση της ημερομηνίας λήξης που υποδεικνύεται στην ετικέτα.

INDIKACE PRO POUŽITÍ

CHANG Medium D lze použít pro tyto aplikace:

1. primokultivace buněk z plodové vody
2. pěstování pasážovaných buněk z plodové vody
3. kultivace buněk kostní dřeně
4. odběr vzorků pevně amniotické tkáně z choriových klků

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

POPIS PROSTŘEDKU

CHANG Medium D bylo vyvinuto k primokultivaci lidských buněk z plodové vody pro účely karyotypizace a jiných antenatálních genetických testů. Složení bylo optimalizováno pro metody s použitím kultivační lahve i metody in situ.

	SLOŽKY	
Energetické substráty Inositol Glukóza Pyruvát	Tyrosin	Deoxyadenosin
	Valin	Deoxycytidin
		Deoxyguanosin
	Indikátor pH Fenolová červeně	Guanosin Thymidin Uridin
Pufr Hydrogenuhlíčan sodný	Soli a ionty Chlorid sodný Chlorid draselný Fosforečnan sodný	Antioxidant Adenosin
	Chlorid vápenatý Síran hořečnatý Cholinchlorid	Proteiny, hormony a růstové faktory Kyselina thioktová Insulin Triiodothyronin
	Vitaminy a stopové prvky Kyselina listová Kyselina nikotinová	Progesteron Testosteron B-estradiol
	Glutamin Riboflavin Thiamin Isoleucin	Hydrokortison Bovinní telecí sérum Fetální bovinní sérum
Leucin Lysin Methionin Fenylalanin Prolin Serin Threonin Tryptofan	Biotin Kyselina pantothenová Vitamin B-12 Kyselina askorbová	Ostatní Fibroblastový růstový faktor (FGF) Ethylalkohol
	Nukleové kyseliny Pyridoxin Cytidin	

ZAJIŠTĚNÍ KVALITY

STERILITA

Sérum používané k výrobě doplňku CHANG Medium D bylo testováno na přítomnost virové kontaminace podle předpisů CFR hlava 9 část 113.53. Byl také proveden screening na kontaminaci mykoplazmaty. CHANG Medium D je sterilizováno filtrací o jemnosti 0,1 µ. Vzorky CHANG Medium D jsou testovány na možnou bakteriální kontaminaci podle protokolu testování sterility popsaneho v aktuálně používaném testu na kontrolu sterility podle lékopisu USA <71>.

PŘÍPRAVA K POUŽITÍ

1. CHANG Medium D rychle rozmrazte kroužením lahve ve vodní lázni o teplotě 37 °C.
2. Podle potřeby lze přidat antibiotika.

ROZDĚLENÍ MÉDIA CHANG MEDIUM D

1. Podle pokynů rozmrazte CHANG Medium D.
2. Asepticky rozdělte na díly o příhodném objemu a znovu zmrazte.
3. Až je budete připraveni použít, rozmrazte díly ve vodní lázni o teplotě 37 °C.

NÁVOD K POUŽITÍ

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

Konečné pH musí být 6,8–7,2.

Použití média CHANG Medium D k primokultivaci: metody in situ

1. Odstředěním plodové vody při nízkých otáčkách koncentrujte buňky.
2. Resuspendujte buněčný pelet v malém objemu vlastní plodové vody pacientky. Například aspirujte supernatant z 10 ml odstředěné plodové vody, aby zbylo jen 0,5 ml nad buněčným peletem a resuspendujte. Ke koncentrování buněčné suspenzi přidejte dostatečné množství CHANG Medium D, abyste výsledně měli 0,5 ml na jedno krycí skličko (celkem 4 krycí sklička) nebo 2 ml na kultivační lahvičku.
3. Inkubujte kultury nerušeně při teplotě 37 °C a v atmosféře s 5 % – 8 % CO₂.
4. 2. den kultury zaplavte přidáním 2 ml CHANG Medium D.
5. Po 4 až 5 dnech zkontrolujte růst kultur. Jakmile začnou růst, je třeba dodat živiny. Živiny dodejte tak, že odstraníte veškerý supernatant kultury a nahradíte ho 2 ml čerstvého CHANG Medium D. Poté doporučujeme kulturám doplňovat živiny každé 2 dny.
6. 5. den nebo po něm kontrolujte růst kultur a když zjistíte dostatečné kolonie, proveďte sběr.
7. Optimálních výsledků se dosahuje, pokud jsou kultury vyživeny médiem CHANG Medium D den před sběrem.

Použití média CHANG Medium D k primokultivaci: metody s využitím kultivačních lahví

1. Odstředěním plodové vody při nízkých otáčkách koncentrujte buňky.
2. Resuspendujte buněčný pelet v malém objemu vlastní plodové vody pacientky. Například aspirujte supernatant z 10 ml odstředěné plodové vody, aby zbyl jen 1 ml nad buněčným peletem a resuspendujte. Přidejte 4 ml média CHANG Medium D; celkový objem na kultivační lahev bude 5 ml.
3. Inkubujte kultury nerušeně při teplotě 37 °C a v atmosféře s 5 % – 8 % CO₂.
4. 5. den zkontrolujte růst. Nahraďte médium čerstvým médiem CHANG Medium D a, pokud zjistíte dostatečný růst buněk, proveďte sběr.
5. Následně kontrolujte růst kultur a provádějte úplné výměny média každý den, dokud nezjistíte dostatečné kolonie a nejste připraveni ke sběru.
6. Optimálních výsledků se dosahuje, pokud jsou kultury vyživeny médiem CHANG Medium D den před sběrem.

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

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

UCHOVÁVÁNÍ A STABILITA

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

Chraňte před fluorescenčním světlem.

Specifické datum expirace naleznete na štítku lahve. CHANG Medium D lze opakovaně zmrazit maximálně 2x a uchovávat rozmrazené při teplotě 2 °C až 8 °C po dobu 14 dní, aniž 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 školenými v postupech, které zahrnují indikovanou aplikaci, pro kterou je prostředek určený.

Nepoužívejte žádnou lahev s poškozeným sterilním napojením

CHANG Medium D nepoužívejte po uplynutí data expirace vyznačeného na štítku.

DANSK

INDIKATIONER FOR ANVENDELSE

CHANG Medium D kan anvendes til følgende applikationer:

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

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

BESKRIVELSE AF PRODUKTET

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

KOMPONENTER	
Energisubstrater Inositol Glukose Pyruvat	pH-indikator Rød fenol
Buffer Natriumbikarbonat	Salte og ioner Natriumklorid Kaliumklorid Natriumfosfat Kalciumklorid Magnesiumsulfat Koliniklorid Natriumselenit
Aminosyrer Alanin Arginin Asparagin Asparaginsyre Cystein Glutaminsyre Glutamin Glycin Histidin Isoleucin Leucin Lysin Methionin Phenylalanin Prolin Serin Threonin Tryptofan Tyrosin Valin	Vitaminer og sporelementer Folinsyre Nikotinsyre Riboflavin Thiamin Biotin Pantothensyre B12-vitamin Ascorbinsyre
	Nukleinsyrer Pyridoxin Cytidin Deoxyadenosin Deoxycytidin Deoxyguanosin

KVALITETSSIKRING

STERILITET

Serum, der er anvendt i produktionen af CHANG Medium D, er testet for viral kontamination ifølge CFR Title 9 Part 113.53. Det er også screenet for mykoplasmakontaminering. CHANG Medium D er steriliseret ved filtrering gennem et 0,1 µ filter. Prøver af CHANG Medium D testes for potentiel bakteriologisk kontaminering ifølge protokollen for sterilitetstestning som beskrevet i den aktuelle USP-sterilitetstest <71>.

KLARGØRING

1. Optø hurtigt CHANG Medium D ved at hvirvle flasken i et 37 °C vandbad.
2. Der kan eventuelt tilsættes antibiotika.

AFMÅLING AF CHANG MEDIUM D

1. Optø CHANG Medium D ifølge vejledningen.
2. Fordel mediet aseptisk i mængder af passende størrelse, og nedfrys dem igen.
3. Optø de opdeltte mængder i et 37 °C vandbad, når de skal bruges.

BRUGSANVISNING

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

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

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

1. Centrifuger amnionvæsken ved lav hastighed for at koncentrere cellerne.

2. Resuspender cellepelleten i en lille volumen af patientens egen amnionvæske. Aspirer f.eks. supernatanten fra 10 ml centrifugeret amnionvæske til 0,5 ml over cellepelleten, og resuspender. Tilsæt nok CHANG Medium D til den koncentrerede cellesuspension for at få en endelig udsåningsvolumen på 0,5 ml pr. dækglas (i alt 4 dækglas) eller 2 ml pr. ampul.
3. Inkuber kulturerne uforstyrret ved 37 °C i en atmosfære med 5-8 % CO₂.
4. Skyl kulturerne på dag 2 ved at tilsætte 2 ml CHANG Medium D.
5. Efter 4-5 dage skal kulturernes vækst kontrolleres. Kulturerne skal næres, når der er observeret vækst. Dette gøres ved at fjerne hele kultursupernatanten og erstatte den med 2 ml friskt CHANG Medium D. Det anbefales, at kulturerne næres hver anden dag herefter.
6. Kontroller kulturernes vækst på/eller efter dag 5, og høst, når der observeres nok kolonier.
7. De bedste resultater opnås, hvis kulturerne forsynes med CHANG Medium D dagen inden høsten.

Anvendelse af CHANG Medium D til primære kulturer: Metodologi med kolbe

1. Centrifuger amnionvæsken ved lav hastighed for at koncentrere cellerne.
2. Resuspender cellepelleten i en lille volumen af patientens egen amnionvæske. Aspirer f.eks. supernatanten fra 10 ml centrifugeret amnionvæske til 1 ml over cellepelleten, og resuspender. Tilsæt 4 ml CHANG Medium D, så den totale volumen er 5 ml pr. kolbe.
3. Inkuber kulturerne uforstyrret ved 37 °C i en atmosfære med 5-8 % CO₂.
4. Kontroller væksten på dag 5. Udskift mediet med friskt CHANG Medium D, og høst, hvis der observeres tilstrækkelig cellevækst.
5. Kontroller kulturernes vækst, og udskift mediet fuldstændigt hver dag herefter, indtil der observeres nok kolonier, og er klar til at blive høstet.
6. De bedste resultater opnås, hvis kulturerne forsynes med CHANG Medium D dagen inden høsten.

Anvendelse af CHANG Medium D 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 D, har en tendens til at være mere sensitive over for proteasebehandling end amnionvæskeceller, der dyrkes i konventionelt medium. Det kan være nødvendigt at ændre protokollen for at tage hensyn hertil.

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

OPBEVARING OG STABILITET

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

Beskyttes mod fluorescerende lys.

Se udløbsdatoen på flaskeetiketten. CHANG Medium D 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 frarådes.

FORHOLDSREGLER OG ADVARSLER

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

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

Anvend ikke CHANG Medium D efter den udløbsdato, der er angivet på etiketten.

SUOMI

KÄYTTÖAIHE

CHANG Medium D -elatusainetta voidaan käyttää seuraaviin tarkoituksiin:

1. lapsivesilolujen primaariviljely
2. siirrostettujen lapsivesilolujen kasvattaminen
3. luuydinsolujen viljely
4. kiinteä ammoniakalvokudos istukkabiopsiasta.

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

VÄLINEEN KUVAS

CHANG Medium D kehitettiin ihmisen lapsivesisolujen primaariviljelyyn käytettyyn määrittämistä ja muita syntymää edeltäviä geneettisiä testejä varten. Koostumus on optimoitu sekä viljelypullo- että in situ -menetelmiä varten.

	AINESOSAT	
Energiasubstraatit	pH-indikaattori fenolipuna	guanosiini tymidini uridiini
inosioli glukoosi pyruvaatti	Suolat ja ionit natriumkloridi kaliumkloridi natriumfosfaatti kalsiumkloridi magnesiumsulfaatti koliinikloridi natriumseleniitti	Antioksidantti adenosiini
Puskuri natriumbikarbonaatti		Proteiiniit, hormonit ja kasvutekijät tioktiinihappo insuliini trijodityroniini progesteroni testosteroni beetaestradioli hydrokortisoni vasikan seerumi naudan sikion seerumi
Aminohapot alanini arginiini asparagiini asparagiinihappo kysteini glutamiinihappo glutamiini glysiini histidiini isoleusiini leusiini lysiini mettoniini myrtilalanini proliini seriini treoniini tryptofaani tyrosiini valiini	Vitamiinit ja hivenaineet foolihappo nikotiinihappo nikotilaviini tiamiini biotini pantoteeniuhappo B-12-vitamiini askorbiinihappo	Muut fibroblastikasvutekijä (FGF) etanoli
	Nukleiinihapot pyridoksiini syidiini deoksadenosiini deoksisyidiini deoksiguanosini	

LAADUNVARMENNUS

STERILIIYS

CHANG Medium D -tuotteen valmistuksessa käytettävä seerumi on testattu viruskontaminaation varalta CFR-säännöksen osan 9 pykälän 113.53 mukaisesti. Se on seulottu myös mykoplasmakontaminaation varalta. CHANG Medium D on steriloitu suodattamalla 0,1 µm:n suodattimen läpi. CHANG Medium D -tuotteen näytteet testataan mahdollisen bakteerikontaminaation varalta noudattaen nykyisessä USP-steriilistystissä <71> kuvattua steriiliteastausmenettelyä.

KÄYTÖN VALMISTELU

1. Sulata CHANG Medium D -elatusaine nopeasti, 37 °C:n vesihauteessa pulloa pyörittäen.
2. Haluttaessa voidaan lisätä antibiootteja.

CHANG MEDIUM D -RAVINTOLISÄN JAKAMINEN ERIIN

1. Sulata CHANG Medium D ohjeiden mukaisesti.
2. Jaa aseptista menettelyä käyttäen käteväen kokosiisin eriin ja pakasta uudelleen.
3. Kun elatusainetta tarvitaan käyttöön, sulata erät 37 °C:n vesihauteessa.

KÄYTTÖOHJEET

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

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

CHANG Medium D-elatusaineen käyttö primaariviljelmiin: in situ -menetelmät

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

CHANG Medium D -liuoksen käyttäminen primaariviljelmiin: Pullomenetelmät

1. Konsentroi solut sentrifugoimalla lapsivettä pienellä nopeudella.
2. Suspendoi solusakka pienen määrään potilaan omaa lapsivettä. Jos esimerkiksi 10 ml:n lapsivesinäyte sentrifugoidaan, aspiroi supernatanttia pois niin, että solusakan yläpuolelle jää 1,0 ml, ja suspendoi näyte uudelleen. Lisää 4 ml CHANG Medium D -liuosta lopulliseen maljaustilavuuteen 5 ml / viljelypullo.
3. Inkuboi viljelmiä ilman häiriöitä 37 °C:ssa 5–8-prosenttisesti CO₂-ilmakehässä.
4. Tarkista kasvu päivänä 5. Vaihda elatusaine tuoreeseen CHANG Medium D -liukseen ja kerää solut, jos havaitaan riittävää solukasvu.
5. Tarkista viljelmien kasvu ja vaihda elatusaine sen jälkeen kokonaan uuteen joka päivä, kunnes havaitaan riittävästi pesäkkeitä ja ne ovat valmiita kerättäviksi.
6. Parhaat tulokset saadaan, kun viljelmiä ravitaan CHANG Medium D -liuksella keräämistä edeltävänä päivänä.

CHANG Medium D -liuoksen käyttäminen siirrostettujen lapsivesisolujen kasvattamiseen:

Siirrosta solut käsittelemällä viljelmät trypsiinillä (tai pronaasilla jne.) kuten normaalistikin, kun soluja kasvatetaan perinteisessä elatusaineessa. Proteaasikäsitellyä on kuitenkin valvottava huolella. CHANG Medium D -liuksessa kasvatetut lapsivesisolut ovat herkempiä proteaasikäsitellylle kuin perinteisessä elatusaineessa kasvatetut lapsivesisolut. Kasvatusmenetelmää on ehkä muutettava tämän huomioon ottamiseksi.

Huomautus: CHANG Medium D -liukseen muodostuu usein kalsiumoksalaattikiteitä. Näiden kiteiden esiintymisen ei ole osoitettu heikentävän tuotteen toimintakykyä millään tavoin.

SÄILYTTÄMINEN JA STABILIIYS

Säilytä CHANG Medium D pakastettuna -10 °C:ssa. Käyttämätön CHANG Medium D -luos voidaan pakastaa uudelleen tai säilyttää 2–8 °C:ssa.

Suojaa loistevalaisimen valolta.

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

VAROTOIMET JA VAROITUKSET

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

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

Älä käytä CHANG Medium D -liuosta etiketissä osoitetun viimeisen käyttöpäivän jälkeen.

LATVISKI

LIETOŠANAS INDIKĀCIJA

„CHANG Medium D” (Čanga barotni D) var lietot tālāk norādītajos gadījumos.

1. Augļa ūdens šūnu primārā kultivēšanā.
2. Pārsētu augļa ūdens šūnu audzēšanā.
3. Kaulu smadzeņu šūnu kultivēšanā.
4. Kompaktajiem amnija audiem, kas iegūti horija bārktiņu parauga izmeklēšanā.

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

IERĪCES APRAKSTS

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

	SASTĀVDAĻAS	
Enerģijas substrāti Inozitiols Glikoze Piruvāts	pH-indikators Fenolsarkanais	Guanozīns Timidīns Uridīns
Bufersķīdums Nātrija bikarbonāts	Sāļi un joni Nātrija hlorīds Kalija hlorīds Nātrija fosfāts Kalcija hlorīds Magnija sulfāts Holīna hlorīds Nātrija selenīts	Antioksidants Adenozīns
Aminoskābes Alanīns Arginīns Asparagīns Asparagīnskābe Cisteīns Glutamīnskābe Glutamīns Gliķīns Histidīns Izoleiķīns Leiciīns Lizīns Metionīns Fenilalanīns Prolīns Serīns Treoniīns Triptofāns Tiroziīns Valīns	Vitāmiņi un mikroelementi Folijskābe Nikotīnskābe Riboflāvīns Tiamīns Biotīns Pantotēnskābe Vitamiņi B-12 Askorbīnskābe	Proteiņi, hormoni un augšanas faktori Tioktīnskābe Insulīns Trijodlironīns Progesterons Testosterons B-estradiols Hidrokortizons Liellopu teļu serums Liellopu embriju serums
	Nukleīnskābes Piridoksīns Citidīns Dezoksadenozīns Dezoksicitidīns Dezoksiguanozīns	Citas Fibroblastu augšanas faktors (<i>fibroblast growth factor – FGF</i>) Etilspirts

KVALITĀTES NODROŠINĀŠANA

STERILITĀTE

„CHANG Medium D” ražošanā izmantotais serums pārbaudīts, lai noteiktu vīrusālo piesārņojumu, saskaņā ar nosacījumiem Federālo normatīvo aktu kodeksa (*Code of Federal Regulation – CFR*) 9. sadaļas 113.53. nodalī. Tas pārbaudīts arī, lai noteiktu piesārņojumu ar mikoplazmu. „CHANG Medium D” ir sterilizēta, filtrējot caur 0,1 µ filtru. „CHANG Medium D” paraugi pārbaudīti, lai noteiktu iespējamo bakteriālo piesārņojumu, atbilstoši sterilitātes testēšanas protokolam, kas aprakstīts pašreizējā ASV Farmakopejas (*USP*) sterilitātes testā <71>.

SAGATAVOŠANA LIETOŠANAI

1. Ātri atkausējiet „CHANG Medium D”, pudeli virpinot 37 °C ūdens vannā.
2. Ja vēlams, var pievienot antibiotikas.

„CHANG MEDIUM D” DALIŠANA ALIKVOTAJĀS DAĻĀS

1. Atkausējiet „CHANG Medium D” atbilstoši norādījumiem.
2. Aseptiskā veidā sadaliet piemērota lieluma alikvotājs daļās un atkārtoti sasaldējiet.

3. Alikvotās daļas atkausējiet 37 °C ūdens vannā, kad esat gatavs tās lietot.

LIETOŠANAS NORĀDĪJUMI

Kultūru papildināšanai izmantotās barotnes pH jābūt 6,8–7,2 (t. i., barotnei jābūt nedaudz iedzeltenā laša krāsā). pH līmenis ir viegli pielāgojams, barotnes flakonu ar nedaudz vajīgāk uzlikto aizbāzni uz apmēram 30 minūtēm ievietojot 5–8 % CO₂ inkubatorā.

Gaļīgajam pH līmenim jābūt 6,8–7,2.

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

1. Centrifugējiet augļa ūdeni ar nelielu ātrumu, lai koncentrētu šūnas.
2. Šūnu lodīti atkārtoti suspendējiet nelielā daudzumā paša pacienta augļa ūdens. Piemēram, aspirojiet supernatantu no 10 ml augļa ūdens centrifugāta līdz 0,5 ml virs šūnu lodītes un atkārtoti suspendējiet. Koncentrētajai šūnu suspensijai pievienojiet pietiekamu daudzumu „CHANG Medium D”, lai iegūtu gaļīgo uzsēšanas daudzumu 0,5 ml uz katru segstiklīņu (pavisam 4 segstiklīņi) vai 2 ml uz flakonu.
3. Netraucēti inkubējiet kultūras 37 °C temperatūrā 5–8 % CO₂ vidē.
4. 2. dienā uzpludiniet kultūras, pievienojot 2 ml „CHANG Medium D”.
5. Pēc 4–5 dienām jāpārbauda kultūru augšana. Tiklīdz novēro augšanu, kultūras jāpapildina. Papildiniet kultūras, ņemot visu kultūras supernatantu un aizvietojot to ar 2 ml svaigas „CHANG Medium D”. Pēc tam ieteicams kultūras papildināt ik pēc 2 dienām.
5. dienā/vai pēc tās pārbaudiet kultūru augšanu un, kad novēro pietiekama apjoma kolonijas, ievāciet šūnas.
7. Vislabākos rezultātus iegūst, ja kultūras papildina ar „CHANG Medium D” vienu dienu pirms ievākšanas.

„CHANG Medium D” lietošana primārajai kultivēšanai: flakona metodes

1. Centrifugējiet augļa ūdeni ar nelielu ātrumu, lai koncentrētu šūnas.
2. Šūnu lodīti atkārtoti suspendējiet nelielā daudzumā paša pacienta augļa ūdens. Piemēram, aspirojiet supernatantu no 10 ml augļa ūdens centrifugāta līdz 1 ml virs šūnu lodītes un atkārtoti suspendējiet. Pievienojiet 4 ml „CHANG Medium D”, lai kopējais daudzums katrā flakonā būtu 5 ml.
3. Netraucēti inkubējiet kultūras 37 °C temperatūrā 5–8 % CO₂ vidē.
5. dienā pārbaudiet augšanu. Barotni aizstājiet ar svaigu „CHANG Medium D” un, ja novēro pietiekamu šūnu augšanu, ievāciet tās.
5. Pēc tam katru dienu pārbaudiet kultūru augšanu un pilnībā nomainiet barotni, līdz novēro pietiekama apjoma kolonijas un šūnas ir gatavas ievākšanai.
6. Vislabākos rezultātus iegūst, ja kultūras papildina ar „CHANG Medium D” vienu dienu pirms ievākšanas.

„CHANG Medium D” izmantošana pārsētu augļa ūdens šūnu audzēšanai

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

Piezīme: barotnē „CHANG Medium D” parasti veidojas kalcija oksalāta kristāli. Nav novērots, ka šie kristāli radītu jebkādu nevēlamu ietekmi uz produkta veiktspēju.

GLABĀŠANA UN STABILITĀTE

„CHANG Medium D” glabāt sasaldētu –10 °C temperatūrā. Neizlietoto „CHANG Medium D” var sasaldēt atkārtoti vai glabāt 2–8 °C temperatūrā.

Aizsargājiet no fluorescējošas gaismas.

Attiecīgo derīguma termiņu skatīt pudeles etiķetē. „CHANG Medium D” drīkst sasaldēt atkārtoti ne vairāk par 2 reizēm un glabāt atkausēti 2–8 °C temperatūrā 14 dienas, neietekmējot tās funkciju. Glabāt ilgāk par 14 dienām nav ieteicams.

PIESARDZĪBAS PASĀKUMI UN BRĪDINĀJUMI

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

Nelietojiet nevienu pudeli, kurai ir bojāts sterilaiss iesaigojums.

„CHANG Medium D” nelietot pēc derīguma termiņa, kas norādīts etiķetē.

NEDERLANDS

INDICATIE VOOR GEBRUIK

CHANG Medium D kan worden gebruikt voor de volgende toepassingen:

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

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

BESCHRIJVING VAN HET HULPMIDDEL

CHANG Medium D is ontwikkeld voor de primaire kweek van menselijke vruchtwatercellen voor gebruik bij karyotypering en ander prenataal genetisch onderzoek. Deze formule is geoptimaliseerd voor zowel fles- als in situ-methodes.

COMPONENTEN		
Energiesubstraten	pH-indicator	Guanosine
Inositol	Fenolrood	Thymidine
Glucose		Uridine
Pyruvaat	Zouten en ionen	
	Natriumchloride	
	Kaliumchloride	Antioxident
Buffer	Natriumfosfaat	Adenosine
Natriumbicarbonaat	Calciumchloride	Eiwitten, hormonen en groeifactoren
	Magnesiumsulfaat	
Aminozuren	Cholinechloride	Alfa-liponzuur
Alanine	Natriumseleniet	Insuline
Arginine		Tri-joodthyronine
Asparagine	Vitaminen en sporelementen	Progesteron
Asparaginezuur	Foliumzuur	Testosteron
Cysteïne	Nicotinezuur	B-oestradiol
Glutaminezuur	Riboflavine	Hydrocortison
Glutamine	Thiamine	Runderkalfs serum
Glycine	Biotine	Foetaal
Histidine	Pantotheenzuur	runderserum
Isoleucine	Vitamine B-12	Overige
Leucine	Ascorbinezuur	Fibroblast
Lysine		groefactor (FGF)
Methionine	Nucleïnezuren	Ethylalcohol
Fenylalanine	Pyridoxine	
Proline	Cytidine	
Serine	Deoxyadenosine	
Treonine	Deoxycytidine	
Tryptofaan	Valine	
Tyrosine		

KWALITEITSBORING

STERILITEIT

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

VOORBEREIDING OP HET GEBRUIK

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

OPDELEN VAN CHANG MEDIUM D

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

GEBRUIKSAANWIJZING

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

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

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

- Centrifugeer het vruchtwater op lage snelheid om de cellen te concentreren.
- Resuspender 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 resuspender. Voeg voldoende CHANG Medium D aan de geconcentreerde celsuspensie toe tot een eindvolume van 0,5 ml per dekglasje (4 dekglasjes in totaal) of 2 ml per flesje is verkregen.
- Zet de kweken ongestoord in de incubator bij 37 °C en 5%-8% CO₂-atmosfeer.
- Bedek de kweken op dag 2 volledig door 2 ml CHANG Medium D 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 D. Aanbevolen wordt de kweken daarna elke twee dagen te voeden.
- Controleer de kweken op of na dag 5 op groei en oogst als er voldoende kolonien worden waargenomen.
- De beste resultaten worden verkregen als de kweken op de dag vóór het oogsten met CHANG Medium D worden gevoed.

Gebruik van CHANG Medium D voor primaire kweken: flesmethode

- Centrifugeer het vruchtwater op lage snelheid om de cellen te concentreren.
- Resuspender de celpellet in een kleine hoeveelheid eigen vruchtwater van de patiënt. Voorbeeld: Aspireer het supernatant van 10 ml gecentrifugeerd vruchtwater tot 1 ml boven de celpellet en resuspender. Voeg 4 ml CHANG Medium D toe tot een totaal volume van 5 ml per fles.
- Zet de kweken ongestoord in de incubator bij 37 °C en 5%-8% CO₂-atmosfeer.
- Controleer de groei op dag 5. Vervang het medium door vers CHANG Medium D en oogst als er voldoende celgroei is waargenomen.
- Controleer daarna elke dag of de kweken gegroeid zijn en vervang het medium volledig tot er voldoende kolonien worden waargenomen die kunnen worden geoogst.
- De beste resultaten worden verkregen als de kweken op de dag vóór het oogsten met CHANG Medium D worden gevoed.

Gebruik van CHANG Medium D voor het groeien van gepasseerde vruchtwatercellen:

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

NB: Vaak vormen er zich calciumoxalaatkristallen in CHANG Medium D. Uit onderzoek is gebleken dat de aanwezigheid van deze kristallen geen nadelige invloed heeft op de prestaties van het product.

BEWAREN EN STABILITEIT

Bewaar CHANG Medium D bevroren bij een temperatuur van -10 °C. Ongebruikt CHANG Medium D kan opnieuw worden ingevoren of worden bewaard bij een temperatuur van 2 °C tot 8 °C.

Bescherm tegen fluorescentielicht.

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

VOORZORGSMAATREGELEN EN WAARSCHUWINGEN

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

Gebruik geen flessen waarvan de steriele verpakking beschadigd is.

Gebruik CHANG Medium D niet na de houdbaarheidsdatum op het etiket.

POLSKI

PRZEZNACZENIE

Pożywka CHANG Medium D może być stosowana w przypadku:

- hodowli pierwotnej komórek płynu owodniowego,
- wzrostu pasażowanych komórek płynu owodniowego,
- hodowli komórek szpiku kostnego,
- łitej 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 D opracowano dla hodowli pierwotnej ludzkich komórek płynu owodniowego przeznaczonych do kariotypowania i wykonywania innych prenatalnych testów genetycznych. Niniejszy skład zoptymalizowano dla metod hodowli w butelkach oraz metod in situ.

Substraty energetyczne	Składniki Wskaźnik pH	Tymidyna
Inozytol	Czerwień fenolowa	Urydyna
Glukoza	Sole i jony	Antyoksydant
Pirogronian	Chlorek sodu	Adenozyna
	Chlorek potasu	
Bufor	Fosforan sodu	Białka, hormony
Wodorowęglan sodu	Chlorek wapnia	Lczynniki wzrostu
	Siarczan magnezu	Kwas tioktanowy
	Chlorek cholinu	Insulina
Aminokwasy	Selenian sodu	Trijodotyronina
Alanaina		Progesteron
Arginina	Witaminy	Testosteron
Asparagina	Lpierwiastki śladowe	B-estradiol
Kwas asparaginowy	Kwas foliowy	Surowica cielęca
Cysteina	Kwas nikotynowy	Płodowa surowica
Kwas glutaminowy	Ryboflawina	bydłęca
Glutamina	Tiamina	
Glicyna	Histydyna	
Histydyna	Izoleucyna	Inne
Izoleucyna	Leucyna	Czynniki wzrostu
Lizyna	Witamina B-12	fibroblastów (FGF)
Metionina	Kwas askorbinowy	Alkohol etylowy
Fenylalanina	Kwasy nukleinowe	
Prolina	Pyrydoksyna	
Seryna	Cytydyna	
Treonina	Deoksyadenozyna	
Tryptofan	Deoksytydyna	
Tyrozyna	Deoksyguanozyna	
Walina	Guanozyna	

ZAPEWNIANIE JAKOŚCI

STERYLNOŚĆ

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

PRZYGOTOWANIE DO UŻYCIA

- Szybko rozmrozić pożywkę CHANG Medium D, obracając butelkę ruchem wirowym w łaźni wodnej nastawionej na temperaturę 37°C.
- W razie potrzeby można dodać antybiotyki.

ROZDZIELANIE POŻYWKI CHANG MEDIUM D NA PORCJE

- Rozmrozić pożywkę CHANG Medium D zgodnie z instrukcjami.
- W sposób aseptyczny rozdzielić pożywkę na porcje o odpowiednim rozmiarze, a następnie zamrozić ponownie.
- Gdy porcje będą gotowe do użycia, rozmrozić je w łaźni wodnej nastawionej na temperaturę 37°C.

INSTRUKCJA UŻYCIA

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

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

Stosowanie pożywki CHANG Medium D dla hodowli pierwotnych: metody in situ

- Odwirować płyn owodniowy przy niskiej prędkości, aby zażyć komórki.
- Zawiesić osad komórkowy w małej objętości płynu owodniowego pacjentki. Na przykład zaaspirować nadsącz z 10 ml odwirowanego płynu owodniowego do 0,5 ml nad osadem komórkowym, a następnie zawiesić osad. Dodać wystarczającą ilość pożywki CHANG Medium D do zażęzionej zawiesiny komórkowej, aby uzyskać końcową objętość posiewu równą 0,5 ml na szkiełko nakrywkowe (łącznie 4 szkiełka nakrywkowe) lub 2 ml na butelkę CHANG Medium D.
- Inkubować hodowlę w temperaturze 37°C w atmosferze 5%–8% CO₂, nie zakłócając ich.
- W dniu 2. zalać hodowlę, dodając 2 ml pożywki CHANG Medium D.
- Po 4–5 dniach sprawdzić wzrost hodowli. Po zaobserwowaniu wzrostu należy zasilić hodowlę pożywką. Zasiłać hodowlę pożywką, usuwając cały nadsącz hodowli i zastępując go 2 ml świeżej pożywki CHANG Medium D. Po wykonaniu tej czynności zalecane jest zasilanie hodowli pożywką co 2 dni.
- Sprawdzić wzrost hodowli w 5. dniu lub w późniejszych dniach i zebrać komórki, jeśli zaobserwowano wystarczającą liczbę kolonii.
- Najlepsze wyniki otrzymano, gdy zasilano hodowlę pożywką CHANG Medium D dzień przed zbiorem.

Stosowanie pożywki CHANG Medium D dla hodowli pierwotnych: metody hodowli w butelkach hodowlanych

- Odwirować płyn owodniowy przy niskiej prędkości, aby zażyć komórki.
- Zawiesić osad komórkowy w małej objętości płynu owodniowego pacjentki. Na przykład zaaspirować nadsącz z 10 ml odwirowanego płynu owodniowego do 1 ml nad osadem komórkowym, a następnie zawiesić osad. Dodać 4 ml pożywki CHANG Medium D do całkowitej objętości równej 5 ml na butelkę.
- Inkubować hodowlę w temperaturze 37°C w atmosferze 5%–8% CO₂, nie zakłócając ich.
- Sprawdzić wzrost hodowli w 5. dniu. Zmienić pożywkę na świeżą pożywkę CHANG Medium D i zebrać komórki, jeśli zaobserwowano wystarczający wzrost komórek.
- Po wykonaniu tej czynności codziennie sprawdzać wzrost hodowli i całkowicie wymieniać pożywkę do czasu zaobserwowania wystarczającej liczby kolonii gotowych do zbioru.
- Najlepsze wyniki otrzymano, gdy zasilano hodowlę pożywką CHANG Medium D dzień przed zbiorem.

Stosowanie pożywki CHANG Medium D do wzrostu pasażowanych komórek płynu owodniowego:

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

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

PRZECHOWYWANIE I STABILNOŚĆ

Przechowywać pożywkę CHANG Medium D zamrożoną w temperaturze -10°C. Niezżytą pożywkę CHANG Medium D można zamrozić ponownie lub przechowywać w temperaturze od 2°C do 8°C.

Chronić przed światłem fluorescencyjnym.

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

ŚRODKI OSTROŻNOŚCI I OSTRZEŻENIA

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

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

Nie używać pożywki CHANG Medium D po upływie terminu ważności podanego na etykiecie.

ROMÂNĂ

INDICAȚIE DE UTILIZARE

CHANG Medium D se poate utiliza pentru următoarele întrebuințări:

- 1. cultura primară a celulelor din lichidul amniotic
- 2. creșterea celulelor din lichidul amniotic pasajate
- 3. cultura celulelor din măduva osoasă
- 4. țesut amniotic solid din probele de vilii chorionici colectate.

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

DESCRIEREA DISPOZITIVULUI

CHANG Medium D a fost realizat pentru cultura primară a celulelor din lichidul amniotic uman în vederea utilizării pentru cariotipare și alte teste genetice prenatale. Formula a fost optimizată pentru metodologii atât cu flacon, cât și in situ.

Substraturi energetice	COMPONENTE	
	Indicator pH	Timidină
Inozitol	Roșu de fenol	Uridină
Glucoză		
Piruvat		
	<u>Săruri și ioni</u>	<u>Antioxidant</u>
	Clorură de sodiu	Adenozină
	Clorură de potasiu	
	Fosfat de sodiu	<u>Proteine, hormoni</u>
	Clorură de calciu	<u>și factori de creștere</u>
	Sulfat de magneziu	Acid tiotic
	Clorură de colină	Insulină
	Selenit de sodiu	Triiodotironină
		Progesteron
		Testosteron
	<u>Vitamine</u>	B-estradiol
	<u>și oligoelemente</u>	Hidrocortizon
	Acid folic	Ser bovin de vițel
	Acid nicotinic	Ser fetal bovin
	Riboflavină	
	Tiamină	<u>Altele</u>
	Biotină	Factor de creștere
	Acid pantotenic	a fibroblașilor (FCF)
	Vitamina B-12	Alcool etilic
	Acid ascorbic	
	<u>Acizi nucleici</u>	
	Pirindoxină	
	Citidină	
	Deoxiadenozină	
	Deoxicitidină	
	Deoxiguanozină	
	Guanozină	

ASIGURAREA CALITĂȚII

STERILITATE

Serul utilizat la producerea CHANG Medium D a fost testat pentru a nu fi contaminat viral, în conformitate cu CFR Titlul 9 Partea 113.53. Acesta a fost de asemenea analizat pentru detectarea contaminării cu mycoplasma. CHANG Medium D este sterilizat prin filtrare printr-un filtru de 0,1 μ. Probe de CHANG Medium D 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. Dezghețați rapid CHANG Medium D 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 D

- 1. Dezghețați CHANG Medium D în conformitate cu instrucțiunile.
- 2. Distribuți aseptice în părți alicote de mărime convenabilă și recongelați.
- 3. Dezghețați părțile alicote într-o baie de apă la 37°C atunci când sunt gata pentru utilizare.

INSTRUCȚIUNI DE UTILIZARE

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

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

Utilizarea CHANG Medium D pentru culturi primare: metodologii in situ

- 1. Centrifugați lichidul amniotic la viteză redusă pentru a concentra celulele.
- 2. Resuspendați peleta 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 D 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 flaconas.
- 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 D.
- 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 îndepărtarea întregului supernatant al culturii și înlocuind-ul cu 2 ml de CHANG Medium D proaspăt. Se recomandă în continuare hrănirea 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 D în ziua anterioară recoltării.

Utilizarea CHANG Medium D pentru culturi primare: Metodologii cu flacon

- 1. Centrifugați lichidul amniotic la viteză redusă pentru a concentra celulele.
- 2. Resuspendați peleta cu celule într-un volum mic din propriul lichid amniotic al pacientei. De exemplu, aspirați supernatantul din 10 ml de lichid amniotic centrifugat la 1 ml deasupra peletei cu celule și resuspendați. Adăugați 4 ml de CHANG Medium D la un volum total de 5 ml per flacon.
- 3. Incubați culturile fără a le agita la 37°C într-o atmosferă de CO₂ 5%-8%.
- 4. Controlați dacă există creștere în ziua 5. Înlocuiți mediul cu CHANG Medium D proaspăt și recoltați dacă se observă creșterea unui număr suficient de celule.
- 5. Controlați culturile pentru a vedea dacă există creștere și înlocuiți în continuare complet mediul în fiecare zi până când se observă suficiente colonii și acestea sunt gata pentru recoltare.
- 6. Cele mai bune rezultate se obțin atunci când culturile sunt hrănite cu CHANG Medium D în ziua anterioară recoltării.

Utilizarea CHANG Medium D pentru creșterea celulelor din lichidul amniotic pasajate:

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

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

DEPOZITARE ȘI STABILITATE

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

Protejați de lumina fluorescentă.

A se vedea eticheta flaconului pentru data de expirare specifică. CHANG Medium D poate fi recongelat de maximum 2 ori și depozitat dezghețat la o temperatură între 2°C și 8°C timp de 14 zile fără a 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 D după data expirării indicată pe eticheta individuală.

SVENSKA

INDIKATIONER

CHANG Medium D kan användas för följande tillämpningar:

- 1. primärodling av celler i amnionvätska
- 2. odling av celler från amnionvätska från passage
- 3. odling av benmärgsceller
- 4. fast amnionvävnad från chorionvillibiospi.

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

PRODUKTBESKRIVNING

CHANG Medium D har utvecklats för primärodling av celler i human amnionvätska för karyotypbestämning och andra antenatala genetiska tester. Denna näringslösning har optimerats för både flask- och in situ-metoder.

Energisubstrat	pH-indikator	Guanosin
Inositol	Fenolrött	Tymidin
Glukos		Uridin
Pyruvat	<u>Salter och ioner</u>	
	Natriumklorid	<u>Antioxidant</u>
	Kaliumklorid	Adenosin
	Natriumfosfat	
	Kalciumklorid	<u>Proteiner, hormoner</u>
	Magnesiumsulfat	<u>samt tillväxtfaktorer</u>
	Kolklorid	Tioktinsyra
	Natriumselenit	Insulin
		Trijodtyronin
	<u>Vitaminer och spårämnen</u>	Progesteron
	Folsyra	Testosteron
	Nikotinsyra	Betaöstradiol
	Riboflavin	Hydrokortison
	Tiamin	Serum från kalvar
	Biotin	Fetalt bovint serum
	Pantotensyra	
	Vitamin B-12	<u>Övrigt</u>
	Askorbinsyra	Fibroblasttillväxt-faktor (FGF)
		Etylalkohol
	<u>Nukleinsyror</u>	
	Pyridoxin	
	Cytidin	
	Deoxiadenosin	
	Deoxicytidin	
	Deoxiguanosin	

KVALITETSSÄKRING

STERILITET

Det serum som används vid framställningen av CHANG Medium D har testats för viral kontamination enligt CFR titel 9 del 113.53. Det har också screenats för kontamination av mykoplasma. CHANG Medium D har steriliserats med hjälp av filtrering genom ett 0,1 μ-filter. Prover av CHANG Medium D 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 D snabbt genom att snurra flaskan i ett 37 °C vattenbad.
- 2. Antibiotika kan tillsättas om så önskas.

ALIKVOTERING AV CHANG MEDIUM D

- 1. Tina upp CHANG Medium D enligt anvisningarna.
- 2. Fördela mediet aseptiskt i alikvoter av lämplig storlek och frys ner dem på nytt.
- 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-inkubator med locket något lossat, under cirka 30 minuter.

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

Användning av CHANG Medium D för primärkulturer: in situ-metoder

- 1. Centrifugera amnionväskan på låg hastighet för att koncentrera cellerna.
- 2. Resuspendera cellpelleten i en liten volym av patientens egen amnionvätska. Aspirera t.ex. supernatanten från 10 ml centrifugerad amnionvätska till 0,5 ml ovanför cellpelleten och resuspendera. Tillsätt tillräckligt med CHANG Medium D 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 D.
- 5. Efter 4–5 dagar bör kulturerna kontrolleras med avseende på växt. Näring bör tillföras till kulturerna så snart växt har observerats. Tillför näring till kulturerna genom att avlägsna all supernatant från kulturen och ersätta den med 2 ml färskt CHANG Medium D. Det rekommenderas att därefter tillföra näring till kulturerna varannan dag.
- 6. Kontrollera kulturerna med avseende på växt på/efter dag 5 och skörda dem när tillräckligt många kolonier observeras.
- 7. Bästa resultat erhålls när kulturerna tillförs näring med CHANG Medium D dagen innan de skördas.

Användning av CHANG Medium D för primärkulturer: Metoder med flaska

- 1. Centrifugera amnionväskan på låg hastighet för att koncentrera cellerna.
- 2. Resuspendera cellpelleten i en liten volym av patientens egen amnionvätska. Aspirera t.ex. supernatanten från 10 ml centrifugerad amnionvätska till 1 ml ovanför cellpelleten och resuspendera. Tillsätt 4 ml CHANG Medium D till en total volym på 5 ml per flaska.
- 3. Inkubera kulturerna, utan att störa dem, vid 37 °C i 5–8 % CO₂-atmosfär.
- 4. Kontrollera kulturerna med avseende på växt på dag 5. Byt ut mediet mot färskt CHANG Medium D och skörda om tillräcklig cellväxt observeras.
- 5. Kontrollera kulturerna med avseende på växt och byt därefter helt ut mediet varje dag tills tillräckligt med kolonier observeras och är klara att skördas.
- 6. Bästa resultat erhålls när kulturerna tillförs näring med CHANG Medium D dagen innan de skördas.

Användning av CHANG Medium D för odling av celler från amnionvätska 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 noga övervakas. Celler från amnionvätska som odlas i CHANG Medium D tenderar att vara känsligare för proteasbehandling än celler från amnionvätska som odlas i konventionellt medium. Ett protokoll kan behöva modifieras för att ta hänsyn till detta.

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

FÖRVARING OCH HÅLLBARHET

Förvara CHANG Medium D fryst vid -10 °C. Oanvänt CHANG Medium D kan frysas ned på nytt eller förvaras vid 2–8 °C.

Skyddas mot fluorescerande ljus.

Se flaskans etikett för specifikt utgångsdatum. CHANG Medium D 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.

FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER OCH VARNINGAR

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

Flaskor vars sterila förpackning inte är intakt får inte användas.

Använt inte CHANG Medium D efter det utgångsdatum som anges på etiketten.

EESTI KEELED

NÄIDUSTUS KASUTAMISEKS

Toodet CHANG Medium D võib kasutada järgmistel eesmärkidel.

1. Lootevedeliku rakkude primaarne kultuurimine
2. Tõstetud lootevedeliku rakkude kasvatamine
3. Luuüdi rakkude kultuurimine
4. Tahke lootekude koorionii hattude proovist

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

SEADME KIRJELDUS

CHANG Medium D töötabi välja inimese lootevedeliku rakkude primaarseks kasutamiseks karüotüüpimise ja muude sünnieelsete geneetiliste testide tegemise eesmärgil. Koostis on optimeeritud nii rakukasvatuspudelites kui ka in situ metodoloogiateks.

<u>Energia substraatid</u>	<u>OSAD</u>	
Inositol	<u>pH-indikaator</u>	Tümidiin
Glükoos	Fenoolipunane	Uridiin
Püruvaat	<u>Soolad</u> ja <u>ioonid</u>	<u>Antioksiidant</u>
	Naatriumkloriid	Adenosiin
	Kaaliumkloriid	
<u>Puhver</u>	Naatriumfosfaat	<u>Valgud, hormoonid</u>
Naatriumvesi-	Kaltsiumkloriid	<u>ja kasvufaktorid</u>
nikkarbonaat	Magneesiumsulfaat	Lipoehape
	Koliinklorid	Insuliin
<u>Aminohapped</u>	Naatriumseleniit	Trijodtüroiniin
Alanin		Progesteroon
Arginiin	<u>Vitamiinid</u> ja	Testosteroon
Asparagiin	<u>mikroelementid</u>	B-östradiol
Asparagiinhape	Foolhape	Hüdrokortisoon
Tsüsteiin	Nikotiinhape	Vasika päritolu
Glutamiinhape	Riboflaviin	seerum
Glutamiin	Glütsiin	Veiselootte päritolu
Histiidin	Biotiin	seerum
Isoleutsiin	Pantoteenhape	
Leutsiin	Vitamiin B-12	<u>Muud</u>
Lüsiin	Askorbiinhape	Fibroplastide
Metioniin		kasvufaktor (FGF)
Fenüülaalaniin	<u>Nukleiinhapped</u>	Etüülalkohol
Proliin	Püridoksiin	
Seriin	Tsütiidin	
Treoniin	Deoksüadenosiin	
Trüptofaan	Deoksütsütiidin	
Türosiin	Deoksüguanosiin	
Valiin	Guanosiin	

KVALITEEDI TAGAMINE

STERIILSUS

CHANG Medium D tootmisel kasutatav seerum on testitud viiralse saaste suhtes CFR ptk 9 osa 113.53 järgi. Samuti on seda testitud mükoplasma suhtes. CHANG Medium D on steriliseeritud filtreerimise teel läbi 0,1 µ filtrit. Tooted CHANG Medium D proove on võimaliku bakterioloogilise saaste suhtes testitud, järgides steriilsuse katseprotokollit, mida on kirjeldatud kehtivas USP steriilsustestis <71>.

ETTEVALMISTUSED KASUTAMISEKS

1. Sulatage CHANG Medium D kiirelt, keerutades pudelit 37 °C veevannis.
2. Vajaduse korral võib lisada antibiootikume.

CHANG MEDIUM D ALIKVOOTIMINE

1. Sulatage CHANG Medium D juhiste kohaselt.
2. Jaotage aseptiliselt sobiva suurusega alikvootideks ja külmutage uuesti.
3. Kui olete valmis kasutamiseks, sulatage alikvoodid 37 °C veevannis.

KASUTUSJUHEND

Kultuuride sötõmisteks kasutatava sötõme pH peab olema vahemikus 6,8–7,2 (st sötõde peab olema kergelt kollakasoranž). pH-d on lihtne kohandada, asetades sötõme umbes 30 minutiks kergelt lahti keeratud korgiga 5–8% CO₂ inkubaatorisse.

pH lõppnäit peab olema 6,8–7,2.

Tooted CHANG Medium D kasutamise primaarkultuuride puhul: *in situ* metodoloogiad

1. Tsentrifuugige lootevedelikku väiksel kiirusel, et rakke kontsentreerida.

2. Resuspenderige rakupellet väheses patsiendi enda lootevees. Näiteks võite aspireerida 10 ml tsentrifuugitud lootevedeliku supernatanti 0,5 ml võrra rakupelleti kohale ja resuspenderida. Lisage kontsentreeritud rakususpensioonile piisavalt toodet CHANG Medium D, et igale slaidile oleks võimalik kanda 0,5 ml (kokku 4 slaidi), või 2 ml rakukasvatuspudeli kohta.
3. Inkubeerige kultuure segamatult temperatuuril 37 °C 5–8% CO₂ keskkonnas.
4. 2. päeval katke kultuurid üle 2 ml tootega CHANG Medium D.
5. 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 D-ga. Seejärel on soovitatav kultuure iga 2 päeva järel toita.
6. Kontrollige kultuuride kasvu 5. päeval või pärast seda ning koguge, kui tuvastate piisavad kolooniad.
7. Parimad tulemused saavutatakse kultuuride tootmisel tootega CHANG Medium D üks päev enne kogumist.

- Toote CHANG Medium D kasutamise primaarkultuuride korral: Rakupudeli metodoloogiad
1. Tsentrifuugige lootevedelikku väiksel kiirusel, et rakke kontsentreerida.
 2. Resuspenderige rakupellet väheses patsiendi enda lootevees. Näiteks võite aspireerida 10 ml tsentrifuugitud lootevedeliku supernatanti 1 ml võrra rakupelleti kohale ja resuspenderida. Lisage 4 ml CHANG Medium D-d 5 ml pudeli kogumahu kohta.
 3. Inkubeerige kultuure segamatult temperatuuril 37 °C 5–8% CO₂ keskkonnas.
 4. 5. päeval kontrollige kasvu. Vahetage sõõde värske CHANG Medium D vastu ja koguge, kui tuvastate piisava rakukasvu.
 5. Kontrollige kultuure kasvu suhtes ja vahetage seejärel sõõde iga päev täielikult välja, kuni tuvastate piisavad kolooniad, mis on kogumiseks valmis.
 6. Parimad tulemused saavutatakse kultuuride tootmisel tootega CHANG Medium D üks päev enne kogumist.

Toote CHANG Medium D kasutamise tõstetud lootevedeliku rakkude kasvatamiseks:

Rakkude tõstmiseks tõdelge kultuure trüpsiiniga (või pronaasiga vms) nagu tavapärasel rakkude kasvatamisel tavalises sötõmes. Proteaasiga töötlemist tuleb hoolikalt jälgida. CHANG Medium D-s tödelatud lootevedeliku rakud kipuvad olema proteaasitõtluse suhtes tundlikumad kui tavapärase sötõmes kasvatatud lootevedeliku rakud. Sellega arvestamiseks tuleb võib-olla muuta protokollit.

Märkus. Tootes CHANG Medium D tekib sageli kaltsiumoksaladi kristalle. Nende kristallide esinemine ei ole põhjustanud kahjulikke toimeid toote jõudlusele.

SÄILITAMINE JA STABIILSUS

Säilitage toodet CHANG Medium D külmutatult temperatuuril –10 °C. Kasutamata CHANG Medium D võib uuesti külmutada või säilitada temperatuuril 2–8 °C.

Kaitske fluorestsentsvalguse eest.

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

ETTEVAUTUSABINÕUD JA HOIATUSED

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

Ärge kasutage ühtki pudelit, mille steriilne pakend on rikutud.

Ärge kasutage toodet CHANG Medium D pärast toote etiketil näidatud aegumisküüpäeva.

MAGAGY

FELHASZNÁLÁSI JAVALLATOK

A CHANG Medium D a következőkre használható:

1. az amniotikus folyadék sejteinek elsődleges tenyésztése;
2. az amniotikus folyadék passzált sejteinek növesztése;
3. csontvelősejtek tenyésztése;
4. szilárd amniionszövet mintavételezése chorionbolyhokból.

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

TERMÉKISMERTETÉS

A CHANG Medium D a humán amniotikus folyadék sejteinek elsődleges tenyésztésére lett kifejlesztve, kariatípus meghatározásához és más antenatális genetikai vizsgálatokhoz. Az összetételét flaska és *in situ* módszerekhez is optimalizálták.

<u>Energiaszubsztrátok</u>	<u>pH-indikátor</u>	
Inozitol	Fenolvörös	Guanozin
Glükóz		Timidin
Piruvát	<u>Sók és ionok</u>	Uridin
	Nátrium-klorid	
<u>Puffer</u>	Kálium-klorid	<u>Antioxidáns</u>
Nátrium-bikarbonát	Nátrium-foszfát	Adenozin
	Kalcium-klorid	
<u>Aminosavak</u>	Magnézium-szulfát	<u>Fehérjék, hormonok</u>
Alanin	Kolin-klorid	<u>és növekedési</u>
Arginin	Nátrium-szelenit	<u>faktorok</u>
Aszparagin	<u>Vitaminok</u>	Tioktánsav
Aszparaginsav	<u>és nyomelemek</u>	Inzulin
Cisztein	Folsav	Trijód-tiroin
Glutaminsav	Nikotinsav	Progeszteron
Glutamin	Riboflavin	Testoszteron
Glicin	Tiamin	B-ösztradiol
Hisztidin	Biotin	Hidrokortizon
Izoleucin	Pantoténsav	Szarvasmarha borjú
Leucin	B12-vitamin	szérum
Lizin	Aszkorbinsav	szarvasmarha
Metionin		szérum
Fenilalanin	<u>Nukleinsavak</u>	<u>Egyéb</u>
Prolin	Prindoxin	Fibroblaszt
Szerin	Citidin	növekedési faktor
Treonin	Dezoxi-adenozin	(fibroblast growth
Triptofán	Dezoxi-citidin	factor, GGF)
Tirozin	Dezoxi-guanozin	etil-alkohol
Valin		

MINŐSÉGBIZTOSÍTÁS

STERILITÁS

A CHANG Medium D előállításához használt szérum vírusszennyeződésről a CFR 9. címének 113.53 része szerint vizsgálták. A médium mikoplazma-szennyeződését is megvizsgálták. A CHANG Medium D sterilizálása 0,1 mikronos szűrőn át történő szűréssel történt. A CHANG Medium D mintáit a jelenlegi Amerikai Gyógyszerkönyv sterilítási vizsgálatában <71> leírt sterilításvizsgálati protokollt követve tesztelik a lehetséges bakteriológiai szennyeződésre.

ELŐKÉSZÍTÉS A FELHASZNÁLÁSRA

1. Olvassa fel gyorsan a CHANG Medium D médiumot az üveg 37 °C-os vízfürdőben történő forgatásával.
2. Szükség esetén hozzáadhat antibiotikumot.

A CHANG MEDIUM D SZÉTOSZTÁSA

1. Olvassa fel a CHANG Medium D médiumot az utasítások szerint.
2. Aszeptikusan ossza a kívánt méretű alikvotokra, és fagyassza le újra.
3. 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 médiumnak enyhén sárgás-lazacszíűnek kell lennie). A pH könnyen beállítható úgy, hogy a médiumot 5–8%-os CO₂-inkubátorba teszi körülbelül 30 percre, enyhén meglazított kupakkal.

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

- A CHANG Medium D felhasználása elsődleges tenyésztéshez: *in situ* módszerek
1. Centrifugálja az amniotikus folyadékok alacsony sebességgel a sejtek koncentrálásához.
 2. Szuszpendálja fel újra a sejt pelletet a beteg saját amniotikus folyadékának kis mennyiségében. Például szívja fel 10 ml centrifugált amniotikus folyadék felülőszóját 0,5 ml-re a sejt pellet fölé, és szuszpendálja fel újra. Adjon elegendő CHANG Medium D médiumot a koncentrált sejtuszuszpendához úgy, hogy a végő szélesztési térfogat fedőlemezenként 0,5 ml (összesen 4 fedőlemez) vagy flaskánként 2 ml legyen.
 3. Inkubálja a tenyészeteket zavartalanul 37 °C-on, 5–8%-os CO₂-atmoszférában.
 4. Árassza el a tenyészeteket a 2. napon 2 ml CHANG Medium D hozzáadásával.
 5. 4–5 nap elteltével ellenőrizni kell a tenyészetek növekedését. A tenyészeteket a növekedés megállapítása után táplálni kell. A tenyészetek táplálásához távolítsa el a tenyészet összes felülőszóját, és helyettesítse 2 ml friss CHANG Medium D médiummal. Javasoljuk, hogy a tenyészeteket ezután 2 naponta táplálja.
 6. Ellenőrizze a tenyészetek növekedését az 5. napon vagy azt követően, és amikor elegendő kolónia figyelhető meg, végezze el az összegyűjtést.
 7. A legjobb eredmények úgy érhetőek el, ha a tenyészeteket az összegyűjtés előtti napon CHANG Medium D médiummal táplálják.

- A CHANG Medium D felhasználása elsődleges tenyésztéshez: Flaska módszerek
1. Centrifugálja az amniotikus folyadékok alacsony sebességgel a sejtek koncentrálásához.
 2. Szuszpendálja fel újra a sejt pelletet a beteg saját amniotikus folyadékának kis mennyiségében. Például szívja fel 10 ml centrifugált amniotikus folyadék felülőszóját 1 ml-re a sejt pellet fölé, és szuszpendálja fel újra. Adjon 4 ml CHANG Medium D médiumot a flaskánként 5 ml-es teljes térfogathoz.
 3. Inkubálja a tenyészeteket zavartalanul 37 °C-on, 5–8%-os CO₂-atmoszférában.
 4. Ellenőrizze a növekedést az 5. napon. Cserélje ki a médiumot friss CHANG Medium D médiumra, és ha elegendő sejtnövekedés figyelhető meg, végezze el az összegyűjtést.
 5. Ellenőrizze a tenyészetek növekedését, és ezt követően cserélje ki teljesen a médiumot minden nap addig, amíg elegendő kolónia nem figyelhető meg és a kolóniák készen nem állnak az összegyűjtésre.
 6. A legjobb eredmények úgy érhetőek el, ha a tenyészeteket az összegyűjtés előtti napon CHANG Medium D médiummal táplálják.

A CHANG Medium D felhasználása az amniotikus folyadék passzált sejteinek növesztéséhez:

A sejtek passzálásához kezelje a tenyészeteket tripsinnel (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 D médiumban növekvő sejtjei általában érzékenyebbek a proteázkezelésre, mint a hagyományos médiumban növekvő sejtek. Ennek figyelembevételéhez szükséges lehet a protokoll módosítása.

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

TÁROLÁS ÉS STABILITÁS

A CHANG Medium D médiumot tárolja fagyaszta, –10 °C-on. A fel nem használt CHANG Medium D újra lefagyasztható, vagy 2 és 8 °C közötti hőmérsékleten tárolható.

Védje a fluoreszcens fénytől.

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

ÖVINTÉZKEDÉSEK

ÉS FIGYELMEZTETÉSEK

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

Ne használjon olyan üveget, amelynek a steril csomagolása megsérült.

Ne használja a CHANG Medium D médiumot a címkén feltüntetett lejárati időn túl.

LIETUVIŲ K.

NAUDOJIMO INDIKACIJA

„CHANG Medium D“ terpę galima naudoti šioms paskirtims:

- 1. amniono skysčio lašelių pirminei kultūrai;
- 2. auginant perkeltas amniono skysčio lašteles;
- 3. kaulų čiulpų lašelių kultūrai;
- 4. tvirtu amniono audiniu, gautam paėmus chorioninių išaugų (gaurelių) mėginius.

Ši terpė buvo sukurta naudoti CO₂ inkubatoriuose (lašelių kultūros pusausvyros būseną pasiekta naudojant 5–8 % CO₂ atmosferą).

ĮTAISO APRAŠYMAS

„CHANG Medium D“ terpė buvo sukurta žmogaus amniono skysčio lašelių pirminei kultūrai ir yra skirta naudoti atliekant kariotipavimą ir kitą prenatalinį genetinį tyrimą. Ši formulė buvo optimizuota kolbos ir in situ metodologijoms.

SUEDAMOSIOS DALYS		
<u>Energetiniai</u> <u>substratai</u> Inozitolis Glukozė Piruvatas	<u>pH indikatorius</u> Fenolio raudonasis	Timidinas Uridinas
<u>Būferinis tirpalas</u> Natrio bikarbonatas	<u>Druskos ir jonai</u> Natrio chloridas Kalio chloridas Natrio fosfatas Kalcio chloridas Magnio sulfatas Cholino chloridas Natrio selenitas	<u>Antioksidantas</u> Adenozinas
<u>Aminorūgštys</u> Alaninas Argininas Asparaginas Asparto rūgštis Cisteinas Glutamo rūgštis Glutaminas Glicinas Histidinas Izoleucinas Leucinas Metioninas Fenilalaninas Prolinas Treoninas Triptofanas Tirozinas Valinas	<u>Baltymai, hormonai ir augimo faktoriai</u> Lipo rūgštis Insulinas Trijodtrioninas Progesteronas Testosteronas B-estradolis Hidrokortizonas Versolio kraujo serumas Jaučio embriono kraujo serumas	<u>Kūltūros medžiagos</u> Lipo rūgštis Insulinas Trijodtrioninas Progesteronas Testosteronas B-estradolis Hidrokortizonas Versolio kraujo serumas Jaučio embriono kraujo serumas

KOKYBĖS UŽTIKRINIMAS

STERILUMAS
„CHANG Medium D“ terpės gamyboje naudotas serumas buvo patikrintas dėl užteršimo virusais pagal CFR 9 antraštinę dalį, 113.53 dalį. Jis taip pat buvo patikrintas, ar nėra mikoplazmos užteršimo. „CHANG Medium D“ terpė yra sterilizuota išfiltravus per 0,1 µ filtrą. „CHANG Medium D“ terpės mėginiai yra išširiami dėl galimo užteršimo bakterijomis, laikantis sterilumo tyrimo protokolo, kuris apibūdintas pagal šiuo metu patvirtintą Jungtinių Valstijų farmakopėjos sterilumo testą <71>.

PARUOŠIMAS NAUDOTI

- 1. Atšildykite „CHANG Medium D“ terpę, greitai sukdami buteliuką 37 °C temperatūros vandens vonelėje.
- 2. Jei pageidaujama, galima pridėti antibiotikų.

„CHANG MEDIUM D“ TERPĖS LAŠINIMAS

- 1. Atšildykite „CHANG Medium D“ terpę pagal nurodymus.
- 2. Aseptiškai paskirstykite į patogaus naudoti dydžio alikvotines dalis ir pakartotinai užšaldykite.
- 3. Kai būsite pasirengę naudoti, atšildykite alikvotines dalis 37 °C temperatūros vandens vonelėje.

NAUDOJIMO NURODYMAI

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

Galutinis pH turi būti 6,8–7,2.

- „CHANG Medium D“ terpės naudojimas pirminėms lašelių kultūroms: *in situ* metodologijos
- 1. Centrifuguokite amniono skystį nedideliu greičiu, kad koncentruotumėte lašteles.
- 2. Resuspenduokite laštelės granulę nedideliame kiekyje pacientės amniono skysčio. Pavyzdžiui, siurbkite 10 ml supernatanto iš centrifuguoto amniono skysčio, palikdami 0,5 ml virš laštelės granulės, ir resuspenduokite. [koncentruotą lašelių suspensiją pridėkite pakankamai „CHANG Medium D“ terpės, kad galutinis po kiekvienos plokštelės dengiamuoju stikleliu tenkantis tūris būtų 0,5 ml (iš viso 4 dengiamieji stikleliai), arba po 2 ml vienam flakonėliui.
- 3. Kultūras netrukdomai inkubuokite 37 °C temperatūroje 5–8 % CO₂ atmosferoje.
- 4. 2-ąją dieną apsemkite kultūras, pridėdami 2 ml „CHANG Medium D“ terpės.
- 5. Po 4–5 dienų kultūras reikia patikrinti, ar auga. Pastebėjus, kad kultūros auga, jas reikia maitinti. Maitinkite kultūras pašalindami visą kultūros paviršinį sluoksnį ir pakeisdami terpę į 2 ml šviežios „CHANG Medium D“ terpės. Vėliau rekomenduojama kultūras maitinti kas 2 dienas.
- 6. 5-ąją dieną arba po 5 dienų patikrinkite kultūrų augimą ir aptikę pakankamai kolonijų lašteles surinkite.
- 7. Geriausių rezultatų pasiekiami kultūras maitinant „CHANG Medium D“ terpėje, likus dienai iki kultūrų ėmimo.

- „CHANG Medium D“ terpės naudojimas pirminėms kultūroms: Kolbos metodologijos
- 1. Centrifuguokite amniono skystį nedideliu greičiu, kad koncentruotumėte lašteles.
- 2. Resuspenduokite laštelės granulę nedideliame kiekyje pacientės amniono skysčio. Pavyzdžiui, siurbkite 10 ml supernatanto iš centrifuguoto amniono skysčio, palikdami 1 ml virš laštelės granulės, ir resuspenduokite. Įpilkite 4 ml „CHANG Medium D“ terpės, kad kiekvienoje kolboje būtų po 5 ml.
- 3. Kultūras netrukdomai inkubuokite 37 °C temperatūroje 5–8 % CO₂ atmosferoje.
- 4. 5-ąją dieną patikrinkite augimą. Pakeiskite terpę šviežia „CHANG Medium D“ terpe ir imkite kultūras, jei pastebėjote, kad užaugo pakankamai lašelių.
- 5. Tikrinkite kultūrų augimą ir kasdien visiškai keiskite terpę, kol pastebėsite, kad užaugo pakankamai kolonijų ir jas galima imti.
- 6. Geriausių rezultatų pasiekiami kultūras maitinant „CHANG Medium D“ terpėje, likus dienai iki kultūrų ėmimo.

„CHANG Medium D“ terpės naudojimas auginant perkeltas amniono skysčio lašteles:
Norėdami perkelti lašteles, apdorokite kultūras tripsinu (arba pronasu ir pan.), kaip įprasta auginant lašteles įprastinėje terpėje. Tačiau proteazės procedūrą reikia atidžiai stebėti. „CHANG Medium D“ terpėje užaugintos amniono skysčio laštelės yra jautresnės proteazės procedūrai nei amniono skysčio laštelės, užaugintos įprastinėje terpėje. Gali prireikti pakeisti protokolą, kad galėtumėte atsivelti į šį faktą.

Pastaba. Dažnai „CHANG Medium D“ terpėje susidaro kalcio oksalato kristalai. Nėra nustatyta, kad tie kristalai kaip nors kenkia produkto savybėms.

LAIKYMAS IR STABILUMAS

Laikykite „CHANG Medium D“ terpę užšaldytą –10 °C temperatūroje. Nenaudotą „CHANG Medium D“ galima pakartotinai užšaldyti arba laikyti 2–8 °C temperatūroje.

Saugoti nuo fluorescencinių spindulių.

Konkrečios galiojimo pabaigos datos ieškokite buteliuko etiketėje. „CHANG Medium D“ terpę galima pakartotinai užšaldyti daugiausiai 2 kartus ir laikyti atšildytą 2–8 °C temperatūroje 14 dienų (jos savybės lieka nepakitusios). Nerekomenduojama laikyti ilgiau kaip 14 dienų.

ATSARGUMO PRIEMONĖS IR ĮSPĖJIMAI

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

Nenaudokite produkto, jei pažeista sterili buteliuko pakuotė.

Nenaudokite „CHANG Medium D“ terpės pasibaigus etiketėje nurodytai galiojimo pabaigos datai.

TURKČĖ

KULLANIM ENDIKASYONU

- CHANG Medium D şu uygulamalar için kullanılabilir:
- 1. amniyotik sıvı hücrelerinin primer kültürü
- 2. pasaj yapılmış amniyotik sıvı hücrelerini üretme
- 3. kemik iliği hücrelerinin kültürü
- 4. koryonik villus örneklemesinden solid amniyotik doku.

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

ÇİHAZ TANIMI

CHANG Medium D, karyotipleme ve diğer antenatal genetik testlerde kullanıma yönelik olarak insan amniyotik sıvı hücrelerinin primer kültürü için geliştirilmiştir. Bu formül hem flask hem in situ metodolojileri için optimize edilmiştir.

BİLEŞENLER	
<u>Enerji Substratları</u> İnositol Glukoz Piruvat	<u>pH göstergesi</u> Fenol Kırmızısı
<u>Tampón</u> Sodyum Bikarbonat	<u>Tuzlar ve iyonlar</u> Sodyum Klorür Sodyum Fosfat Kalsiyum Klorür Magnezyum Sülfat Kolin Klorür Sodyum Selenit
<u>Amino Asitler</u> Alanin Arjinin Asparajin Aspartik Asit Sistein Glutamik Asit Glutamin Glisin Histidin İzöloşin Lösin Lizin Metiyonin Fenilalanin Prolin Serin Treonin Triptofan Tirozin Valin	<u>Antioksidan</u> Adenozin <u>Proteinler, Hormonlar ve Büyüme Faktörleri</u> Tiyotik Asit İnsülin Triido Tironin Progesteron Testosteron B-Estradiol Hidrokorizon Sığır dana serumu Fetal sığır serumu <u>Diğerleri</u> Fibroblast büyüme faktörü (FGF) Etil Alkol
<u>Nükleik asitler</u> Piridoksin Sitidin Deoksiaadenozin Deoksistidin Deoksiguanozin	

KALİTE GÜVENCE

STERİLİTE
CHANG Medium D üretiminde kullanılan serum, CFR Başlık 9 Kısım 113.53 uyarınca viral kontaminasyon için test edilmiştir. Ayrıca mikoplazma kontaminasyonu için taranmıştır. CHANG Medium D 0,1 µ bir filtreden filtrasyon yoluyla sterilize edilmiştir. CHANG Medium D örnekleri mevcut USP sterilite testi <71> içinde tanımlanan sterilite testi protokolü izlenerek olası bakteriyolojik kontaminasyon açısından test edilir.

KULLANIM HAZIRLIĞI

- 1. CHANG Medium D ürününü bir 37°C su banyosunda şişeyi gevirek hızla çözün.
- 2. İstenirse antibiyotikler eklenebilir.

CHANG MEDIUM D ALIKOTLAMA

- 1. CHANG Medium D ürününü talimata göre çözün.
- 2. Uygun büyüklükte alikotlara aseptik olarak dağıtın ve tekrar dondurun.
- 3. Alikotları kullanmaya hazır olduğunuzda 37°C su banyosunda çözün.

KULLANMA TALİMATI

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

Son pH 6,8 - 7,2 olmalıdır.

Primer Kültürler için CHANG Medium D Kullanımı: in situ Metodolojiler

- 1. Hücreleri konsantre etmek için amniyotik sıvıyı düşük hızda santrifüleyin.
- 2. Hücre pelletini hastanın kendi amniyotik sıvısının küçük bir miktarında tekrar süspansiyon haline getirin. Örneğin santrifülenmiş 10 mL amniyotik sıvının supernatanını hücre pelletinin 0,5 mL üzerine kadar aspire edin ve tekrar süspansiyon haline getirin. Konsantre hücre süspansiyonuna lamel başına 0,5 mL (toplam 4 lamel) veya flasket başına 2 mL olacak şekilde son plakalama hacmini mümkün kılma üzere yeterli CHANG Medium D ekleyin.
- 3. Kültürleri ellemeden 37°C %5 - %8 CO₂ atmosferi altında inkübe edin.
- 4. Kültürleri gün 2’de 2 mL CHANG Medium D ekleyerek tamamen sıvıya örtün.
- 5. Kültürlerin 4 - 5 günden sonra üreme açısından kontrol edilmesi gerekir. Kültürler üreme gözlendikten sonra beslenmelidir. Kültürleri tüm kültür supernatanını alıp yerine 2 mL yeni CHANG Medium D koyarak besleyin. Bundan sonra kültürlerin 2 günde bir beslenmesi önerilir.
- 6. Kültürleri 5. günde veya sonrasında üreme için kontrol edin ve yeterli koloni gözlenince toplayın.
- 7. En iyi sonuçlar kültürlerin toplama öncesi günde CHANG Medium D ile beslenmesiyle alınır.

- Primer Kültürler için CHANG Medium D Kullanımı: Flask Metodolojileri
- 1. Hücreleri konsantre etmek için amniyotik sıvıyı düşük hızda santrifüleyin.
- 2. Hücre pelletini hastanın kendi amniyotik sıvısının küçük bir miktarında tekrar süspansiyon haline getirin. Örneğin santrifülenmiş 10 mL amniyotik sıvının supernatanını hücre pelletinin 1 mL üzerine kadar aspire edin ve tekrar süspansiyon haline getirin. Flask başına toplam 5 mL hacim için 4 mL CHANG Medium D ekleyin.
- 3. Kültürleri ellemeden 37°C %5 - %8 CO₂ atmosferi altında inkübe edin.
- 4. Gün 5’te üreme için kontrol edin. Vasatı yeni CHANG Medium D ile değiştirin ve yeterli hücre gelişimi gözlenirse toplayın.
- 5. Kültürlerin üreme durumunu kontrol edin ve bundan sonra yeterli koloni gözlenene ve toplamaya hazır olana kadar her gün vasatı tamamen değiştirin.
- 6. En iyi sonuçlar kültürlerin toplama öncesi günde CHANG Medium D ile beslenmesiyle alınır.

Pasaj Yapılmış Amniyotik Sıvı Hücrelerini Üretmek için CHANG Medium D kullanımı:
Hücre pasajı yapmak için kültürlere, hücreler geleneksel vasatta üretildiğinde normalde yapacağınız gibi tripsin (veya Pronase vs.) muamelesi yapın. Ancak proteaz tedavisi dikkatle izlenmelidir. Amniyotik sıvı hücreleri CHANG Medium D içinde büyütüldüğünde geleneksel vasatta büyütülenlere göre proteaz tedavisine daha duyarlı olma eğilimindedir. Protokolünüzü bunu hesaba alacak şekilde değiştirmek gerekebilir.

Not: CHANG Medium D içinde sıklıkla Kalsiyum Oksalat kristalleri oluşur. Bu kristallerin varlığının ürün performansı üzerinde herhangi bir olumsuz etkisi olduğu gösterilmemiştir.

SAKLAMA VE STABİLİTE

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

Floresan ışıktan koruyun.

Spesifik son kullanma tarihi için şişe etiketine bakınız. Chang Medium D, kullanım öncesinde işlevi bozulmaksızın en fazla 2 kez yeniden dondurulabilir ve çözülmüş olarak 2°C ile 8°C arasında 14 gün boyunca saklanabilir. 14 günden fazla saklama önerilmez.

ÖNLEMLER VE UYARILAR

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

Steril ambalajın olumsuz etkilendiği herhangi bir şişeyi kullanmayın

CHANG Medium D ürününü etikette belirtilen son kullanma tarihinden sonra kullanmayın.

INDIKÁCIA NA POUŽITIE

CHANG Medium D možno použiť na nasledujúce aplikácie:

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

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

POPIS ZARIADENIA

CHANG Medium D bolo vyvinuté na primárnu kultiváciu buniek plodovej vody na použitie pri karyotypovaní a iných prenatalných genetických testoch. Táto receptúra bola optimalizovaná pre metódy fliašiek aj in situ.

	ZLOŽKY	
Energetické substráty	Indikátor pH	tymidín
inositol	fenolová červená	uridín
glukóza	Soli a ióny	Antioxidant
pyruvát	chlorid sodný	adenozín
	chlorid draselný	
	fosfát sodný	Bielkoviny, hormóny a rastové faktory
Pufer	chlorid vápenatý	kyselina tioktová
hydrogénuhličitan sodný	síran horečnatý	inzulín
	cholin vápenatý	trijodotyronín
	seleničitan sodný	progesterón
Aminokyseliny		testosterón
alanín	Vitamíny a stopové prvky	B-estradiol
arginín	kyselina listová	hydrokortizón
asparagín	kyselina nikotinová	bovinné telacie sérum
kyselina asparagová	riboflavín	fetálne bovinné sérum
cystein	tiamín	
kyselina glutamová	biotín	
glutamin	kyselina	
glycín	patoténová	Iné
histidín	vitamín B-12	fibroblastový rastový faktor (FGF)
izoleucín	kyselina askorbová	etylalkohol
leucín		
lyzín	Nukleové kyseliny	
metionín	pyridoxín	
fenylalanín	cytidín	
prolín	deoxyadenozín	
serín	deoxytycidín	
treonín	deoxyguanozín	
tryptofán	guanozín	
tyrozín		
valín		

KONTROLA KVALITY

STERILITA

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

PRÍPRAVA NA POUŽITIE

- CHANG Medium D rýchlo rozmrazte vrením fľaše vo vodnom kúpeli pri teplote 37 °C.
- Ak chcete, možno pridať antibiotiká.

ALIKVOTOVANIE CHANG MEDIUM D

- CHANG Medium D rozmrazte podľa pokynov.
- Asepticky ho distribuujte do alikvót vhodnej veľkosti a znovu zmrazte.
- Alikvóty rozmrazte vo vodnom kúpeli pri teplote 37 °C, keď sú pripravené na použitie.

NÁVOD NA POUŽITIE

pH média použitého na živenie kultúr musí byť medzi 6,8 – 7,2 (t. j. médium musí mať mierne žltó-lososovú 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 D na primárne kultúry: metódky in situ

- Plodovú vodu odstreďte pri nízkej rýchlosti, 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 D do koncentrovanej bunkovej suspenzie, aby sa vytvoril konečný plátovací objem 0,5 ml na každé krycie skličko (celkom 4 krycie sklička) alebo 2 ml na každú fláštičku.
- Nerušené kultúry inkubujte pri teplote 37 °C v atmosfére 5 % – 8 % CO₂.
- Druhý deň zalejte kultúry pridaním 2 ml CHANG Medium D.
- Po 4 až 5 dňoch skontrolujte rast na kultúrach. Kultúry treba prživiť, keď sa spozoruje rast. Kultúry pržiňte odstránením všetkého supernatantu kultúry a pridaním 2 ml čerstvého CHANG Medium D. Potom sa odporúča kultúry prživiť každé 2 dni.
- Rast na kultúrach skontrolujte okolo 5. dňa a vykonajte zber, keď spozorujete dostatočné kolónie.
- Najlepšie výsledky sa dosiahnu, keď sú kultúry pržižené CHANG Medium D deň pred zberom.

Použitie CHANG Medium D na primárne kultúry: Metódky fláštičiek

- Plodovú vodu odstreďte pri nízkej rýchlosti, aby sa koncentrovali bunky.
- Bunkovú peletu resuspendujte v malom objeme plodovej vody pacientky. Napríklad aspirujte supernatant 10 ml odstredenej plodovej vody na 1 ml nad bunkovú peletu a resuspendujte. Pridajte 4 ml CHANG Medium D na konečný objem 5 ml na fláštičku.
- Nerušené kultúry inkubujte pri teplote 37 °C v atmosfére 5 % – 8 % CO₂.
- Skontrolujte rast na 5. deň. Ak pozorujete dostatočný rast buniek, vymeňte médium za čerstvé CHANG Medium D a vykonajte zber.
- Skontrolujte rast na kultúrach a potom kompletne vymieňajte médium každý deň dovtedy, kým nepozorujete dostatočné kolónie a nie sú pripravené na zber.
- Najlepšie výsledky sa dosiahnu, keď sú kultúry pržižené CHANG Medium D deň pred zberom.

Použitie CHANG Medium D na rast pasážovaných buniek plodovej vody:

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

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

UCHOVÁVANIE A STABILITA

CHANG Medium D uchovávajte zmrazené pri teplote -10 °C. Nepoužitie CHANG Medium D možno znovu zmraziť a uchovávať pri teplote 2 °C až 8 °C.

Chráňte pred fluorescenčným svetlom.

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

BEZPEČNOSTNÉ OPATRENIA

A VAROVANIA

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

Nepoužívajte žiadnu fľašu, ktorej sterilný obal bol narušený.

CHANG Medium D nepoužívajte po dátume expirácie uvedenom na označení.

INDIKACIJE ZA UPOTREBU

CHANG Medium D môže se upotrebljavati za sljedeće primjene:

- primarnu kulturu stanica amnijske tekućine
- uzgoj supkultiviranih stanica amnijske tekućine
- kulturu stanica koštane srži
- kruto amnijsko tkivo dobiveno biopsijom korionskih resica.

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

OPIS PROIZVODA

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

	KOMPONENTE	
Energetski supstrati	pH indikator	Timidin
Inozitol	Fenol crveno	Uridin
Glukoza	Soli i ioni	Antioksiđans
Piruvat	Natrijev klorid	Adenozin
	Kalijev klorid	
Pufer	Natrijev fosfat	Proteini, hormoni i čimbenici rasta
Natrijev	Kalcijev klorid	Lipoična kiselina
hidrogenkarbonat	Magnezijev sulfat	Inzulín
	Kolinijev klorid	Trijodtrironin
	Natrijev selenit	Progesteron
Aminokiseline		Testosteron
Alanin	Vitamini i elementi u tragovima	B-estradiol
Arginin	Folna kiselina	Hidrokortizon
Asparagin	Nikotinatna kiselina	Serum teladi
Aspartatna kiselina	Glutamin	Fetalni govedi serum
Cistein	Glicin	
Glutamalna kiselina	Histidin	
Glutamin	Izoleucin	Ostalo
Glicin	Leucin	Fibroblastni čimbenik rasta (FGF)
Histidin	Lizin	Etilni alkohol
Izoleucin	Metionin	
Leucin	Fenilalanin	
Lizin	Prolin	
Metionin	Serin	
Fenilalanin	Treonin	
Prolin	Triptofan	
Serin	Tirozin	
Treonin	Valin	
Triptofan		
Tirozin		
Valin		

OSIGURANJE KVALITETE

STERILNOST

Serum koji se koristi za proizvodnju proizvoda CHANG Medium D testiran je na kontaminaciju virusima u skladu sa Zakonikom saveznih propisa SAD-a (CFR), Glava 9., dio 113.53. Uz to, testiran je i na kontaminaciju mikoplazmom. CHANG Medium D steriliziran je filtracijom kroz filter od 0.1 μ. Uzorci proizvoda CHANG Medium D testirani su na moguću bakteriološku kontaminaciju nakon provedbe protokola testiranja sterilnosti koji je opisan u važećem testu sterilnosti u skladu s Farmakopejom Sjedinjenih Američkih Država, USP <71>.

PRIPREMA ZA UPOTREBU

- Brzo odmrznuti proizvod CHANG Medium D mučkajući bočicu u vodenj kupelji temperiranoj na 37 °C.
- Po želji se mogu dodati antibiotici.

ALIKVOTIRANJE PROIZVODA CHANG MEDIUM D

- Odmrznuti proizvod CHANG Medium D u skladu s uputama.
- Aseptički raspodijeliti u alikvote odgovarajućih veličina i ponovno zamrznuti.
- Odmrznuti alikvote u vodenj kupelji temperiranoj na 37 °C kada ih želite upotrijebiti.

UPUTE ZA UPOTREBU

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

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

Upotreba proizvoda CHANG Medium D 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 odgovarajuću količinu proizvoda CHANG Medium D koncentriranoj suspenziji stanica kako bi se postigao konačan volumen nasađivanja od 0,5 ml po pokrovnom stakalcu (ukupno 4 pokrovna stakalca) ili od 2 ml po bočici za kulturu.
- Neometano inkubirati kulture pri 37 °C u atmosferi s 5 % – 8 % CO₂.
- Drugi dan natopiti kulture dodavanjem 2 ml proizvoda CHANG Medium D.
- Nakon 4 do 5 dana provjeriti rast kultura. Hraniti kulture nakon što se zabilježi rast. Za hranjenje kultura ukloniti sav supernatant kulture i zamijeniti ga s 2 ml svježeg proizvoda CHANG Medium D. 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 D dan prije prikupljanja.

Upotreba proizvoda CHANG Medium D za primarne kulture: Metode u tikvici

- 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 1 ml iznad taloga stanica i obnoviti suspenziju. Dodati 4 ml proizvoda CHANG Medium D kako bi se postigao ukupan volumen od 5 ml po tikvici.
- Neometano inkubirati kulture pri 37 °C u atmosferi s 5 % – 8 % CO₂.
- Peti dan provjeriti rast kultura. Zamijeniti medij svježim proizvodom CHANG Medium D i prikupiti kulture ako je zabilježen dovoljan rast stanica.
- Nakon toga svaki dan provjeravati rast kultura i u potpunosti mijenjati medij dok ne bude zabilježena dovoljna količina kolonija spremnih za prikupljanje.
- Najbolji rezultati postižu se kada se kulture hrane proizvodom CHANG Medium D dan prije prikupljanja.

Upotreba proizvoda CHANG Medium D za uzgoj supkultiviranih stanica amnijske tekućine:

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

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

POHRANA I STABILNOST

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

Zaštitiiti od fluorescentnog svjetla.

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

MJERE OPREZA I UPOZORENJA

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

Ne upotrebljavati bocu na kojoj je sterilno pakiranje oštećeno.

Ne upotrebljavati proizvod CHANG Medium D nakon isteka roka valjanosti navedenog na oznaci.

БЪЛГАРСКИ

ПОКАЗАНИЯ ЗА УПОТРЕБА

CHANG Medium D може да се използва за следните приложения:

- първична култура на клетки от амниотична течност,
- растващи пасажни клетки от амниотична течност,
- култура от клетки на костен мозък,
- твърда амнионна тъкан от проба на хорионни въси.

Тази среда е предназначена за използване в СО₂ инкубатори (култури, еквилибрирани с 5% – 8% СО₂ атмосфера).

ОПИСАНИЕ НА ИЗДЕЛИЕТО

CHANG Medium D е разработена за първично култивиране на клетки от човешка амниотична течност за използване при кариотипизиране и други пренатални генетични тестове. Тази формула е оптимизирана за методология със слайд-флакон и методология in situ.

КОМПОНЕНТИ	рН индикатор	Гуанозин
Енергийни субстрати Изозитол Глюкоза Пируват	Фенол, червен	Тимидин Уридин
Буфер Натриев бикарбонат	Соли и йони Натриев хлорид Калиев хлорид Натриев фосфат Калциев хлорид Магнезиев сулфат Холин хлорид Натриев селенит	Антиоксидант Аденозин
Аминокиселини Аланин Аргинин Аспарагин Аспаргинова киселина Цистеин Глутаминова киселина Глутамин Глицин Хистидин Изопевцин Левцин Лизин Метионин Фенилаланин Пролин Серин Треонин Триптофан Тирозин Валин	Витамини и микроелементи Фолиева киселина Никотинова киселина Рибофлавин Тиамин Биотин Пантотенова киселина Витамин В-12 Аскорбинова киселина	Протеини, хормони и растежни фактори Тиктова киселина Инсулин Трийодтиронин Прогестерон Тестостерон В-естрадиол Хидрокортизон Говежди serum от теле Фетален говежди serum
	Други Фибробластен растежен фактор (FGF) Етилов алкохол	

КОНТРОЛ НА КАЧЕСТВОТО

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

ПОДГОТОВКА ЗА УПОТРЕБА

- Размразете CHANG Medium D бързо, като разплащате с кръгови движения бутилката във водна баня с температура 37° С.
- По желание могат да бъдат добавени антибиотици.

АЛИКВОТИРАНЕ НА CHANG MEDIUM D

- Размразете CHANG Medium D съгласно инструкциите.
- Разпределете асептично в аликвотни части с подходящ обем и замразете отново.
- Размразете аликвотните части във водна баня с температура 37° С, когато е необходимо да се използват.

УКАЗАНИЯ ЗА УПОТРЕБА

Нивото на рН на средата, използвана за храняване на културите, трябва да е между 6,8 – 7,2 (т.е. средата трябва да е с леко жълтеникав-розово-оранжев цвят). Нивото на рН може лесно да се регулира чрез поставяне на средата в 5% – 8% СО₂ инкубатор с леко разлабена капачка за около 30 минути.

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

- Използване на CHANG Medium D за първични култури: методологии in situ
- Центрофугирайте амниотичната течност при ниска скорост, за да концентрирате клетките.
 - Ресуспендирайте пелетата от клетки в малък обем амниотична течност от самия пациент. Например аспирирайте супернатанта на 10 ml центрофугирана амниотична течност до 0,5 ml над пелетата от клетки и ресуспендирайте. Добавете достатъчно CHANG Medium D към концентрираната суспензия на клетки, за да остане окончателен обем за нанасяне от 0,5 ml на покривно стъкло (общо 4 покривни стъкла), или 2 ml на слайд-флакон.
 - Инкубирайте културите в покой при 37° С, 5% – 8% СО₂ атмосфера.
 - В ден 2 залейте културите, като добавите 2 ml CHANG Medium D.
 - 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 D. 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 D в деня преди събирането.

- Използване на CHANG Medium D за първични култури: методологии със слайд-флакон
- Центрофугирайте амниотичната течност при ниска скорост, за да концентрирате клетките.
 - Ресуспендирайте пелетата от клетки в малък обем амниотична течност от самия пациент. Например аспирирайте супернатанта на 10 ml центрофугирана амниотична течност до 1 ml над пелетата от клетки и ресуспендирайте. Добавете 4 ml CHANG Medium D за общ обем от 5 ml на слайд-флакон.
 - Инкубирайте културите в покой при 37° С, 5% – 8% СО₂ атмосфера.
 - Проверете за растеж в ден 5. Сменете средата с прясна CHANG Medium D и съберете, ако се наблюдава достатъчен растеж на клетките.
 - Проверявайте културите за растеж и сменяйте изцяло средата всеки ден след това, докато се установят достатъчно колонии и са готови за събиране.
 - Най-добри резултати се постигат, когато културите се захранват с CHANG Medium D в деня преди събирането.

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

Забележка: Кристали калциев оксалат често се формират в CHANG Medium D. Няма данни различие на тези кристали да причинява неблагоприятен ефект върху функционалността на продукта.

СЪХРАНЕНИЕ И СТАБИЛНОСТ

Съхранявайте CHANG Medium D замразена при -10° С. Неизползваната CHANG Medium D може да бъде замразена отново или съхранявана при 2° С до 8° С.

Пазете от флуоресцентна светлина.

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

ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ И ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

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

Не използвайте бутилка, чиято стерилна опаковка е нарушена.

Не използвайте CHANG Medium D след изтичане на срока на годност, посочен на опаковката.

MALTI

INDIKAZZJONI GHALL-UŻU

- CHANG Medium D jista' jiġi użat għall-applikazzjonijiet li ġejjin:
- il-kultura primarja ta' ċelloli tal-fluwidu amnijotiku
 - it-tkabbir ta' ċelloli sottokultivati tal-fluwidu amnijotiku
 - il-kultura ta' ċelloli tal-modullun
 - tessut amnijotiku solidu minn kampjuni ta' villi korjonici.

Dan il-midjum ġie ddisinjat għall-użu f'inkubaturi tal-CO₂ (kulturi ekwilibirati b'atmosfera ta' 5%-8% CO₂).

DESKRIZZJONI TAL-APPARAT

CHANG Medium D ġie żviluppat għall-kultura primarja ta' ċelloli tal-fluwidu amnijotiku uman għall-użu fid-determinazzjoni tal-karjotip u testijiet ġenetiċi oħra ta' qabel it-twelid. Din il-formula ġiet ottimizzata kemm għall-metodoloġiji fil-flask kif ukoll in situ.

Substrati tal-Enerġija	Indikatur tal-pH	Thymidine
Inositol Glucose Pyruvate	Phenol Red	Uridine
Bafer Sodium Bicarbonate	Imluha u Joni Sodium Chloride Potassium Chloride Sodium Phosphate Calcium Chloride Magnesium Sulfate Choline Chloride Sodium Selenite	Antiossidant Adenosine
Acidi Amminici Alanine Arginine Asparagine Aspartic Acid Cysteine Glutamic Acid Glutamine Glycine Histidine Isoleucine Leucine Lysine Methionine Phenylalanine Proline Serine Threonine Tryptophan Tyrosine Valine	Vitami u mikroelementi Folic Acid Nicotinic Acid Riboflavin Thiamine Biotin Pantothenic Acid Vitamin B-12 Ascorbic Acid	Proteini, Ormoni u Fatturi ta' Tkabbir Thioctic Acid Insulina Triiodo Thyronine Progesterone Testosterone B-Estradiol Hydrocortisone Bovine calf serum Fetal bovine serum
	Acidi nukleici Pyridoxine Cytidine Deoxyadenosine Deoxycytidine Deoxyguanosine Guanosine	Ohrajn Fattur ta' tkabbir tal-fibroblast (FGF) Ethyl Alcohol

ASSIGURAZZJONI TAL-KWALITÀ

STERILITÀ
Serum użat fil-produzzjoni ta' CHANG Medium D ġie ttestjat għall-kontaminazzjoni mill-viruses skont CFR Titolu 9 Taqsima 113.53. Ġie skrinjat ukoll għall-kontaminazzjoni minn mikoplażma. CHANG Medium D jiġi sterilizzat permezz ta' filtrazzjoni minn ġo filtru ta' daqs 0.1 μ. Kampjuni ta' CHANG Medium D jiġu ttestjati għall-possibbiltà ta' kontaminazzjoni batterjoloġika skont il-protokoll ta' ttestjar għall-isterilità deskritt fit-test attwali tal-USP għall-Isterilità <71>.

PREPARAZZJONI GHALL-UŻU

- Holl CHANG Medium D malajr billi ddawwar il-flixkun f'banjumarja f'temperatura ta' 37°C.
- Jistghu jżiedu l-antibjotici jekk ikun mixtieġ.

L-UŻU TA' ALIKWOTI TA' CHANG MEDIUM D

- Holl iċ-CHANG Medium D skont l-istruzzjonijiet.
- Qassam b'mod asettiku f'alikwoti ta' daqs konvenjenti u erga' f'friża.
- Holl l-alikwoti f'banjumarja f'temperatura ta' 37°C meta jkunu se jintużaw.

ISTRUZZJONIJIET DWAR L-UŻU

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

Il-pH finali trid tkun bejn 6.8-7.2.

L-użu ta' CHANG Medium D għall-Kulturi Primarji: Metodoloġiji in situ

- Iċċentrifuga l-fluwidu amnijotiku f'veloċità baxxa biex tikkonċentra ċ-ċelloli.
- Erga' s'sospendi l-gerbuba taċ-ċelloli f'volum żgħir tal-fluwidu amnijotiku tal-pazjent stess. Pereżempju, aspira s-supernate ta' 10 mL tal-fluwidu amnijotiku ċċentrifugat sa 0.5 mL 'l fuq mill-gerbuba taċ-ċelloli u erga' s'sospendi. Żid ammont suffiċjenti ta' CHANG Medium D lis-sospensjoni amnijotiku kkonċentrati sabiex ikun hemm il-volum finali għall-plakkatura ta' 0.5 mL għal kull kopertina (total ta' 4 kopertini) jew 2 mL għal kull flasketta.
- Inkuba l-kulturi minghajr ċaqliq f'temperatura ta' 37°C f'atmosfera ta' 5%-8% CO₂.
- Gharraq il-kulturi fit-tieni (2) jum billi żżid 2 mL ta' CHANG Medium D.
- Wara 4 jew 5 ijiem, għandu jiġi ċċekkjat kemm kibru l-kulturi. Il-kulturi għandhom jiġu misqija malli jiġi osservat li bdew jikbru. Isqi l-kulturi billi tneħhi s-supernatant kollu tal-kultura u tbidldu b'2 mL ta' CHANG Medium D frisk. Huwa rrakkomandat li mbagħad il-kulturi jiġu misqijin kull jumejn.
- Iċċekkja kemm kibru l-kulturi fil-jew wara l-5 jum meta jiġi osservat numru suffiċjenti ta' kolonji.
- Jinkisbu l-aħjar riżultati meta l-kulturi jiġu misqijin b'CHANG Medium D fil-jum ta' qabel il-ħsad.

L-Użu ta' CHANG Medium D għal Kulturi Primarji: Metodoloġiji fil-Flask

- Iċċentrifuga l-fluwidu amnijotiku f'veloċità baxxa biex tikkonċentra ċ-ċelloli.
- Erga' s'sospendi l-gerbuba taċ-ċelloli f'volum żgħir tal-fluwidu amnijotiku tal-pazjent stess. Pereżempju, aspira s-supernate ta' 10 mL tal-fluwidu amnijotiku ċċentrifugat sa 1 mL 'l fuq mill-gerbuba taċ-ċelloli u erga' s'sospendi. Żid 4 mL ta' CHANG Medium D għal volum totali ta' 5 mL għal kull flask.
- Inkuba l-kulturi minghajr ċaqliq f'temperatura ta' 37°C f'atmosfera ta' 5%-8% CO₂.
- Fil-5 jum iċċekkja kemm kibru. Biddel il-midjum b'CHANG Medium D frisk u aħsad jekk jiġi osservat tkabbir suffiċjenti taċ-ċelloli.
- Iċċekkja kemm kibru l-kulturi u mbagħad biddel il-midjum kompletament kuljum sakemm jiġi osservat numru suffiċjenti ta' kolonji u jkunu lesti għall-ħsad.
- Jinkisbu l-aħjar riżultati meta l-kulturi jiġu misqijin b'CHANG Medium D fil-jum ta' qabel il-ħsad.

L-użu ta' CHANG Medium D għat-Tkabbir ta' Ċelloli Sottokultivati tal-Fluwidu Amnijotiku:
Għas-sottokultivazzjoni taċ-ċelloli, ittratta l-kulturi bitrypsin (jew pronase, eċċ) bħalma jsir normalment meta ċ-ċelloli jitkabbru f'midjum konvenzjonali. Madankollu, it-trattament bil-protease għandu jiġi mmonitorjat bir-reqqa. Ċelloli tal-fluwidu amnijotiku mkabbra f'CHANG Medium D għandhom tendenza li jkunu iktar sensittivi għat-trattament bil-protease minn ċelloli tal-fluwidu amnijotiku mkabbra f'midjum konvenzjonali. Jista' jkun meħtieġ li l-protokoll tiegħek jiġi mmodifikat sabiex jittieħed akkont ta' dan.

Nota: Kristalli ta' calcium oxalate ta' spiss jifformaw f'CHANG Medium D. Il-preżenza ta' dawn il-kristalli ma jidhrix li tkkawża effett detrimental fuq il-prestazzjoni tal-prodott.

HAŻNA U STABBILTÀ

Aħžen CHANG Medium D iffrizat f'temperatura ta' -10°C. CHANG Medium D li ma ntuzax jista' jerga' jiġi ffrizat jew maħżun f'temperatura ta' 2°C sa 8°C.

Ipproteġi minn dawl fluworexxenti.

Ara t-tikketta fuq il-flixkun għad-data ta' skadenza specifika. CHANG Medium D jista' jerga' jiġi ffrizat sa massimu ta' darbtejn (2) u maħżun mhux iffrizat f'temperatura ta' 2°C sa 8°C għal 14-il jum minghajr ma tiġi affettwata l-funzjoni tiegħu. Mhux irrakkomandat li jinħażen għal iktar minn 14-il jum.

PREKAWZZJONIJIET U TISSIJIJET

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

M'għandek tuża l-ebda flixkun li l-imballaġġ sterili tiegħu jkun ġie kompress.

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

INDIKACIJE ZA UPORABO

Medij CHANG Medium D se lahko uporablja za naslednje aplikacije:

1. primarna kultura celic amnijske tekočine,
2. gojene pasažirane celice amnijske tekočine,
3. kultura celic kostnega mozga,
4. 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 D je razvit za primarno kulturo humanih celic amnijske tekočine za uporabo pri določanju kariotipa in drugih antenatalnih genskih testih. Ta formula je optimizirana za metodologije z bučkami in metodologije *in situ*.

KOMPONENTE

<u>Energijski substrati</u>	<u>Indikator</u>	
Inozitol	<u>rednosti pH</u>	Deoksiganozin
Glukoza	Fenol rdeče	Gvanozin
Piruvat		Timidin
		Uridin
	<u>Soli in ioni</u>	
<u>Pufer</u>	Natrijev klorid	<u>Antioksidant</u>
Natrijev bikarbonat	Kalijev klorid	Adenozin
	Natrijev fosfat	
<u>Aminokisline</u>	Kalcijski klorid	<u>Beljakovine,</u>
Alanin	Magnezijev sulfat	<u>hormoni in rastni</u>
Arginin	Holinklorid	<u>faktorji</u>
Asparagin	Natrijev selenit	Tiotična kislina
Asparaginska kislina		Inzulín
Cistein	<u>Vitaminski elementi</u>	Trijodotironin
Glutaminska kislina	<u>v sledovih</u>	Progesteron
Glutamin	Folna kislina	Testosteron
Glicin	Nikotinska kislina	B-estradiol
Histidin	Riboflavin	Hidrokortizon
Izolevcin	Tiamin	Telečji serum
Levcin	Biotin	Serum govejega zarodka
Lizin	Pantotenska kislina	
Metionin	Vitamin B12	<u>Drugo</u>
Fenilalanin	Askorbinska kislina	Fibroblastni rastni
Prolin		faktor (FGF)
Serin	<u>Nukleinske kisline</u>	Etilni alkohol
Treonin	Pridoksin	
Triptofan	Citidin	
Tirozin	Deoksadenozin	
Valin	Deoksicitidin	

ZAGOTAVLJANJE KAKOVOSTI**STERILNOST**

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

PRIPRAVA ZA UPORABO

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

ALIKVOTIRANJE MEDIJA CHANG MEDIUM D

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

NAVODILA ZA UPORABO

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

Končni pH mora biti 6,8–7,2.

Uporaba medija CHANG Medium D 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 suspendirate. V koncentrirano celično suspenzijo dodajte dovolj medija CHANG Medium D, da dobite končni volumen za preveko krovnih stekelc 0,5 ml na stekelce (skupaj 4 krovna stekelca) ali 2 ml na stekleničko.
3. Nato se morajo kulture nemoteno inkubirati v atmosferi s 5–8 % CO₂ pri 37 °C.
4. 2. dan kulture zalijte z 2 ml medija CHANG Medium D.
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 D. Priporočljivo je, da v nadaljevanju kulture nahranite vsaka 2 dni.
6. Na 5. dan ali po 5. dnevu preverite, koliko so kulture zrastle, in jih spravite, ko opazite dovolj kolonij.
7. Rezultat bo najboljši, če kulture nahranite z medijem CHANG Medium D en dan, preden jih spravite.

Uporaba medija CHANG Medium D za primarne kulture: Metodologije z bučkami

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 1 ml nad celično usedlino in ponovno suspendirate. Dodajte 4 ml medija CHANG Medium D, da dobite celotni volumen 5 ml na bučko.
3. Nato se morajo kulture nemoteno inkubirati v atmosferi s 5–8 % CO₂ pri 37 °C.
4. Na 5. dan preverite rast. Medij zamenjajte s svežim medijem CHANG Medium D in spravite celice, če opazite zadostno rast.
5. V nadaljevanju vsak dan preverite rast kultur in zamenjajte medij v celoti, dokler ne opazite, da je dovolj kolonij pripravljenih, da jih lahko spravite.
6. Rezultat bo najboljši, če kulture nahranite z medijem CHANG Medium D en dan, preden jih spravite.

Uporaba medija CHANG Medium D za gojene pasažirane celice amnijske tekočine:

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

Opomba: V mediju CHANG Medium D pogosto nastanejo kristali kalcijevega oksalata, vendar prisotnost teh kristalov ni pokazala nobenih škodljivih učinkov na uporabnost izdelka.

SHRANJEVANJE IN STABILNOST

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

Zaščitite pred fluorescenčno svetlobo.

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

PREVIDNOSTNI UKREPI IN OPOZORILA

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

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

Medij CHANG Medium D ne smete uporabljati po izteku roka uporabnosti, navedenega na nalepki.