

DEUTSCH

INDIKATIONEN
CHANG Medium D mit Gentamicin 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 Chorionzottenbiopsie.

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

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

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. CHANG Medium D enthält das Antibiotikum Gentamicinsulfat (50 µg/ml).

INHALTSSTOFFE		
<u>Aminosäuren</u>	Insulin	<u>Vitamine und Spurenelemente</u>
Alanin	Progesteron	Ascorbinsäure
Arginin	Testosteron	Folsäure
Asparagin	Beta-Estradiol	Nikotinamid
Asparaginsäure	Hydrokortison	Riboflavin
Cystein		Thiamin
Glutaminsäure	<u>Andere</u>	Pantothensäure
Glutamin	Biotin	Cobalamin
Glycin	Ethylalkohol	Pyridoxin
Histidin	Thyronin	
Isoleucin		
Leucin	<u>Antioxidans</u>	<u>Salze und Ionen</u>
Lysin	Thioctansäure	Natriumchlorid
Methionin		Natriumselenit
Phenylalanin	<u>Nukleinsäuren</u>	Calciumchlorid
Prolin	Desoxyadenosin	Cholinchlorid
Serin	Desoxycytidin	Kaliumchlorid
Theonin	Desoxyguanosin	Magnesiumsulfat
Tryptophan	Adenosin	Natriumphosphat
Tyrosin	Cytidin	
Valin	Guanosin	<u>Puffer</u>
	Thymidin	Natriumbicarbonat
	Uridin	
<u>Proteine, Hormone und Wachstumsfaktoren</u>	<u>Energie substrate</u>	<u>Antibiotikum</u>
Fetales Kälberserum (FBS)	<u>Glukose</u>	Gentamicinsulfat
Kälberserum vom Rind	Pyruvat	<u>Wasser</u>
Fibroblastenwachstumsfaktor	Inositol	Wasser für Injektionszwecke (WFI)
	<u>pH-Indikator</u>	
	Phenolrot	

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 Mykoplasma überprüft. Das 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. CHANG Medium D enthält das Antibiotikum Gentamicinsulfat (50 µg/ml). Bei Bedarf können zusätzliche Antibiotika hinzugefügt werden.

ALIQUOTIEREN 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

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.

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.

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

CHANG Medium D enthält das Antibiotikum Gentamicinsulfat. Es ist anhand angemessener Vorsichtsmaßnahmen sicherzustellen, dass der Patient keine Sensitivität gegenüber diesem Antibiotikum aufweist.

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 höchstens 2-mal erneut eingefroren und aufgetaut für 14 Tage bei 2°C bis 8 °C gelagert werden, ohne dass seine Funktion beeinträchtigt wird. Eine Lagerung für mehr als 14 Tage wird nicht empfohlen.

VORSICHTSMASSNAHMEN UND WARNHINWEISE

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

Keine Flaschen verwenden, deren Sterilverpackung beschädigt wurde.

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

ITALIANO

INDICAZIONI PER L'USO

CHANG Medium D con gentamicina 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).

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

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. CHANG Medium D contiene l'antibiotico gentamicina solfato (50 µg/ml).

COMPONENTI

<u>Aminoacidi</u>	<u>Altro</u>	Acido pantotenico
Alanina	Biotina	Cobalamina
Arginina	Alcol etilico	Piridossina
Asparagina	Tironina	
Acido aspartico		<u>Sali e ioni</u>
Cisteina	<u>Antiossidante</u>	Cloruro di sodio
Acido glutammico	Acido tiotico	Selenito di sodio
Glutamina		Cloruro di calcio
Glicina	<u>Acidi nucleici</u>	Cloruro di colina
Istidina	Deossiadenosina	Cloruro
Isoleucina	Deossicitidina	di potassio
Lisina	Deossiguanosina	Solfato
Metionina	Adenosina	di magnesio
Fenilalanina	Citidina	Fosfato di sodio
Prolina	Guanosina	
Serina	Timidina	<u>Tampone</u>
Treonina	Uridina	Bicarbonato di sodio
Triptofano	<u>Substrati energetici</u>	<u>Antibiotico</u>
Tirosina	<u>Glucosio</u>	Gentamicina
Valina	Piruvato	solfato
<u>Proteine, ormoni e fattori di crescita</u>	<u>Indicatore di pH</u>	<u>Acqua</u>
Siero bovino fetale	Rosso fenolo	Qualità WFI (acqua per iniezioni)
Siero di vitello	<u>Vitamine ed elementi in tracce</u>	
Fattore di crescita dei fibroblasti	Acido ascorbico	
Insulina	Acido folico	
Progesterone	Nicotinamide	
Testosterone	Riboflavina	
Beta estradiolo	Tiamina	
Idrocortisone		

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 micron. 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. Scongela rapidamente CHANG Medium D agitando il flacone in un bagno d'acqua a 37 °C.
2. CHANG Medium D contiene l'antibiotico gentamicina solfato (50 µg/ml). È possibile aggiungere ulteriori antibiotici, se lo si ritiene necessario.

SUDDIVISIONE DI CHANG MEDIUM D IN ALIQUOTE

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

ISTRUZIONI PER L'USO

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 vetrino coprioggetti (totale di 4 vetrini coprioggetti) o 2 ml per minifiasca.
3. Incubare le colture indisturbate a 37 °C in atmosfera al 5-8% di CO₂.
4. Al giorno 2 aggiungere alle colture 2 ml di CHANG Medium 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.

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.

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.

CHANG Medium D contiene l'antibiotico gentamicina solfato. Adottare le opportune precauzioni per assicurarsi che la paziente non presenti sensibilità a questo antibiotico.

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.

ESPAÑOL

INDICACIÓN DE USO

El CHANG Medium D con gentamicina se puede usar para estas aplicaciones:

1. el cultivo primario de células de líquido amniótico
2. expansión de células de líquido amniótico subcultivadas
3. cultivo de células de la médula ósea
4. 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).

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

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*. El CHANG Medium D contiene el antibiótico sulfato de gentamicina (50 µg/ml).

COMPONENTES

<u>Aminoácidos</u>	Insulina	<u>Vitaminas</u>
Alanina	Progesterona	y <u>oligoelementos</u>
Arginina	Testosterona	Ácido ascórbico
Asparagina	Beta-estradiol	Ácido fólico
Ácido aspártico	Hidroocortisona	Nicotinamida
Cisteína		Riboflavina
Ácido glutámico	<u>Otros</u>	Tiamina
Glutamina	Biotina	Ácido pantoténico
Glicina	Alcohol etílico	Cobalamina
Histidina	Tironina	Piridoxina
Isoleucina		
Leucina	<u>Antioxidante</u>	<u>Sales e iones</u>
Lisina	Ácido tritóico	Cloruro sódico
Metionina		Selenito sódico
Fenilalanina	<u>Ácidos nucleicos</u>	Cloruro cálcico
Prolina	Desoxiadenosina	Cloruro de colina
Serina	Desoxicitidina	Cloruro potásico
Treonina	Desoxiguanosina	Sulfato magnésico
Triptófano	Adenosina	Fosfato sódico
Tirosina	Citidina	
Valina	Guanosina	<u>Sistemas tampón</u>
	Timidina	Bicarbonato
	Uridina	sódico
<u>Proteínas, hormonas, y factores de crecimiento</u>	<u>Sustratos energéticos</u>	<u>Antibiótico</u>
Suero bovino fetal (FBS)	<u>Glucosa</u>	Sulfato de gentamicina
Suero bovino de ternera	Piruvato	
Factor de crecimiento fibroblástico (FGF)	Inositol	<u>Aqua</u>
		Calidad de agua para inyectables
	<u>Indicador del pH</u>	
	Rojo de fenol	

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. El CHANG Medium D contiene el antibiótico sulfato de gentamicina (50 µg/ml). 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

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

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

1. Centrifugar el líquido amniótico a baja velocidad para concentrar las células.
2. Resuspender el sedimento celular en un pequeño volumen del propio líquido amniótico de la paciente. Por ejemplo, aspirar el sobrenadante de 10 ml 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.
3. Incubar los cultivos sin perturbaciones a 37 °C en una atmósfera con 5-8 % de CO₂.
4. 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.
5. 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.
6. 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.

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.

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.

El CHANG Medium D contiene el antibiótico sulfato de gentamicina. Se deben adoptar las medidas pertinentes para asegurarse de que la paciente no se encuentre sensibilizada a este antibiótico.

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 esté 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 avec gentamicine peut être utilisé pour les applications suivantes :

1. La culture primaire des cellules du liquide amniotique ;
2. Le repiquage des cellules du liquide amniotique ;
3. La culture des cellules de la moelle osseuse ;
4. 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).

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

DESCRIPTION DU DISPOSITIF

CHANG Medium D a été conçu pour la culture primaire des cellules de liquide amniotique humain lors du cariotypage et des autres tests de diagnostic génétique prénatal. Cette formule a été optimisée pour les méthodes de culture en flacons et *in situ*. CHANG Medium D contient 50 µg/ml de sulfate de gentamicine (antibiotique).

COMPOSANTS

<u>Acides aminés</u>	Bêta-estradiol	Riboflavine
Alanine	Hydrocortisone	Thiamine
Arginine		Acide
Asparagine	<u>Autre</u>	pantothénique
Acide aspartique	Biotine	Cobalamine
Cystéine	Alcool éthylique	Pyridoxine
Acide glutamique	Thyronine	
Glutamine		<u>Sels et ions</u>
Glycine	<u>Antioxydant</u>	Chlorure
Histidine	Acide thioctique	de sodium
Isoleucine		Sélénite
Leucine	<u>Acides nucléiques</u>	de sodium
Lysine	Désoxyadénosine	Chlorure
Méthionine	Désoxycytidine	de calcium
Phénylalanine	Désoxyguanosine	Chlorure
Proline	Adénosine	de choline
Sérine	Cytidine	Chlorure
Thréonine	Guanosine	de potassium
Thryptophane	Thymidine	Sulfate
Tyrosine	Uridine	de magnésium
Valine		Phosphate
	<u>Substrats</u>	de sodium
<u>Protéines, énergétiques</u>	<u>Glucose</u>	<u>Tampon</u>
<u>et facteurs de croissance</u>	Pyruvate	Bicarbonate
Sérum de veau foetal (SVF)	Inositol	de sodium
Sérum de veau	<u>Indicateur de pH</u>	<u>Antibiotique</u>
Facteur de croissance des fibroblastes	Rouge de phénol	Sulfate de gentamicine
Insuline		
Progesterone	<u>Vitamines et oligo-éléments</u>	<u>Eau</u>
Testostérone	Acide ascorbique	Qualité WFI
	Acide folique	
	Nicotinamide	

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 le 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. CHANG Medium D contient 50 µg/ml de sulfate de gentamicine (antibiotique). D'autres 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

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

1. Centrifuger le liquide amniotique à faible vitesse pour concentrer les cellules.
2. 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.
3. Incuber les cultures sans agitation à 37 °C en atmosphère de CO₂ (5 à 8 %).
4. Inonder les cultures le deuxième jour en ajoutant 2 ml de CHANG Medium D.
5. Au bout de 4 à 5 jours, vérifier la croissance des cultures. Dès qu'une croissance est observée, alimenter les cultures en retirant le surnageant et en le remplaçant par 2 ml de CHANG Medium D frais. Il est recommandé d'alimenter les cultures tous les 2 jours par la suite.
6. Vérifier la croissance des cultures à partir du cinquième jour et procéder à la collecte lorsque les cultures ont des colonies de taille suffisante.
7. Les meilleurs résultats sont obtenus lorsque les cultures sont alimentées avec CHANG Medium D la veille de la collecte.

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

1. Centrifuger le liquide amniotique à faible vitesse pour concentrer les cellules.
2. 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.
3. Incuber les cultures sans agitation à 37 °C en atmosphère de CO₂ (5 à 8 %).
4. 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.
5. Examiner la croissance et changer complètement le milieu tous les jours jusqu'à ce que le nombre des colonies soit suffisant pour la collecte.
6. 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.

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.

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.

CHANG Medium D contient du sulfate de gentamicine (antibiotique). Des précautions particulières doivent être prises pour s'assurer que le patient ne présente aucune sensibilité à cet antibiotique.

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 com gentamicina 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 âmio 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).

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

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*. O CHANG Medium D contém o antibiótico sulfato de gentamicina (50 µg/ml).

COMPONENTES

Aminoácidos		
Alanina	Testosterona	Nicotinamida
Arginina	Beta-estradiol	Riboflavina
Asparagina	Hidro cortisona	Tiamina
Ácido aspártico	<i>Outro</i>	Ácido pantoténico
Cisteína	Biotina	Cobalamina
Ácido glutâmico	Álcool etílico	Piridoxina
Glutamina	Tirina	Sais e iões
Glicina		Cloreto de sódio
Histidina	Antioxidante	Selenito de sódio
Isoleucina	Ácido tiótico	Cloreto de cálcio
Leucina		Cloreto de colina
Lisina	Ácidos nucleicos	Cloreto de
Metionina	Desoxiadenosina	potássio
Fenilalanina	Desoxicitidina	Sulfato de
Prolina	Desoxiguanosina	magnésio
Serina	Adenosina	Fosfato de sódio
Treonina	Citidina	
Triptofano	Guanosina	Tampão
Tirosina	Timidina	Bicarbonato
Valina	Uridina	de sódio

Proteínas, hormonas e fatores de crescimento	Substratos energéticos	Antibiótico
	Glucose	Sulfato de gentamicina
	Piruvato	
Soro bovino fetal (FBS)	Inositol	Água
		Qualidade
Soro de vitelo	Indicador de pH	WFI (água p/
Fator de crescimento dos fibroblastos (FGF)	Vermelho de fenol	preparações injetáveis)
	Vitaminas e oligoelementos	
Insulina	Ácido ascórbico	
Progesterona	Ácido fólico	

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 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 para 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.
- O CHANG Medium D contém o antibiótico sulfato de gentamicina (50 µg/ml). Se pretender, pode adicionar mais 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

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.

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 desaperitada durante cerca de 30 minutos.

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.

O CHANG Medium D contém o antibiótico sulfato de gentamicina. Devem ser tomadas as precauções adequadas para assegurar que a doente não é sensível a este antibiótico.

CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE

Conserve 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 nenhum 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

To CHANG Medium D με γενταμικίνη μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τις παρακάτω εφαρμογές:

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

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

Το τελικό pH πρέπει να είναι 6,8-7,2.

ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΗΣ ΣΥΣΚΕΥΗΣ

To CHANG Medium D αναπτύχθηκε για την πρωτογενή καλλιέργεια ανθρώπινων κυττάρων αμνιακού υγρού για χρήση σε καρυοτυποποίηση και άλλες προγεννητικές γενετικές εξετάσεις. Αυτή η σύνθεση έχει βελτιστοποιηθεί τόσο για μεθοδολογίες για μπουκαλάρια όσο και για μεθοδολογίες in situ. Το CHANG Medium D περιέχει το αντιβιοτικό θεική γενταμικίνη (50 µg/mL)

ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ		
Αμινοξέα	Τεταοστερόνη	Φυλλικό οξύ
Αλανίνη	Βήτα οιστραδιόλη	Νικοτιναμίδη
Αργινίνη	Υδροκορτιζόνη	Ριβοφλαβίνη
Ασπαράγινη		Θειαμίνη
Ασπαρτικό οξύ	Άλλα	Παντοθενικό οξύ
Κυστεΐνη	Βιοτίνη	Κοβαλαμίνη
Γλουταμικό οξύ	Αιθυλική αλκοόλη	Πυριδοξίνη
Γλουταμίνη	Θυραμίνη	
Γλυκίνη		Άλατα και ιόντα
Ιστιδίνη	Αντιοξειδωτικό	Χλωριούχο νάτριο
Ισολευκίνη	Θειοκτικό οξύ	Σεληνικό νάτριο
Λευκίνη		Χλωριούχο
Λυσίνη	Νουκλεϊκό οξέα	σαβέσπιο
Μεθειονίνη	Δεοξυδεοσίνη	Χλωριούχος
Φαινυλαλανίνη	Δεοξυκυτιδίνη	χολίνη
Προλίνη	Δεοξυγουανοσίνη	Χλωριούχο κάλιο
Σερίνη	Αδεοσίνη	Θεικό μαγνήσιο
Θρεονίνη	Κυτιδίνη	Φωσφορικό
Τρυπτοφάνη	Γουανοσίνη	νάτριο
Τυροσίνη	Θυμιδίνη	
Βαλίνη	Ουριδίνη	Ρυθμιστικό διάλυμα
		Διττανθρακικό
		νάτριο
Πρωτεΐνες, ορμόνες και αυξητικοί παράγοντες	Ενεργειακά υποστρώματα	
Ορός από έμβρυο βοοειδών (FBS)	Γλυκόζη	
Ορός από μικρό μωσχάρι	Πυροσταφυλικό	Αντιβιοτικό
Αυξητικός παράγοντας ινοβλαστών (FGF)	Ινοσιτόλη	Θεική
Ινσουλίνη		γενταμικίνη
Προγεστερόνη	Δείκτης pH	
	Ερυθρό της φαινόλης	Νερό
		Ποιότητα
		ενέσιμου
	Βιταμίνες και ιννοστοιχεία	υδάτος (WFI)
	Ασκορβικό οξύ	

ΔΙΑΦΩΛΙΣΗ 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 μυκόπλασμα. Το CHANG Medium D έχει αποστειρωθεί μέσω διήθησης με φίλτρο 0,1 µικρομέτρων. Δείγματα του CHANG Medium D ελέγχονται για πιθανή βακτηριολογική μόλυνση, ακολουθώντας το πρωτόκολλο δοκιμασίας στειρότητας που περιγράφεται στην τρέχουσα δοκιμασία στειρότητας κατά USP <71>.

ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΧΡΗΣΗΣ

- Αποψύξτε το CHANG Medium D γρήγορα, περιδινίζοντας τη φιάλη σε υδατόλουτρο θερμοκρασίας 37 °C.
- To CHANG Medium D περιέχει το αντιβιοτικό θειική γενταμικίνη (50 µg/mL). Μπορείτε να προσθέσετε συμπληρωματικά 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 μέγεθος κλάσματα και καταψύξτε τα ξανά.
- Αποψύξτε τα κλάσματα σε υδατόλουτρο θερμοκρασίας 37 °C όταν είστε έτοιμοι να τα χρησιμοποιήσετε.

ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ

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 συμπτυνκνυμένο κυτταρικό εναιώρημα για να παρασχεθεί τελικός όγκος επίστρωσης 0,5 mL ανά καλπτρίδα (συνολικά 4 καλπτρίδες) 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 ελέγχονται για την ανάπτυξη τους. Η παροχή θρεπτικού υλικού στις καλλιέργειες θα πρέπει να γίνεται αφού παρατηρηθεί ανάπτυξη. Παρέχετε θρεπτικό υλικό στις καλλιέργειες αφαιρώντας ολόκληρη την ποσότητα του υπερκείμενου υγρού της καλλιέργειας και αντικαθιστώντας το με 2 mL φρέσκου CHANG Medium D. Συνιστάται η παροχή θρεπτικού υλικού στις καλλιέργειες κάθε 2 ημέρες από αυτό το σημείο και έπειτα.
- Ελέγξτε την ανάπτυξη των καλλιεργειών 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. Αλλάξτε το μέσο με φρέσκο CHANG Medium D και συλλέξτε εάν παρατηρηθεί επαρκής κυτταρική ανάπτυξη.
- Ελέγξτε την ανάπτυξη των καλλιεργειών 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 υποκαλλιεργειών 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 πρωτάση θα πρέπει να παρακολουθείται προσεκτικά. Τα κύτταρα αμνιακού υγρού που καλλιεργούνται στο CHANG Medium D τείνουν να είναι περισσότερο ευαίσθητα στην επεξεργασία με πρωτάση 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.

Το pH του μέσου που χρησιμοποιείται για τη θρέψη των καλλιεργειών 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 πώμα ελαφρώς χαλαρό για περίπου 30 λεπτά.

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

Το CHANG Medium D περιέχει το αντιβιοτικό θειική γενταμικίνη. Θα πρέπει να λαμβάνονται οι απαραίτητες προφυλάξεις για να διασφαλιστεί ότι ο ασθενής δεν έχει ευαισθησία στο συγκεκριμένο αντιβιοτικό.

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 φθορίζον 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 αποστειρωμένης συσκευασίας.

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

ČEŠTINA

INDIKACE PRO POUŽITÍ

CHANG Medium D s gentamicinem 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 pevné anatomické tkáně z choriových klků

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

Konečné pH musí být 6,8–7,2.

POPIS PROSTŘEDKU

CHANG Medium D bylo vynvuto 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. CHANG Medium D obsahuje antibiotikum gentamicin-sulfát (50 µg/ml).

SLOŽKY		
<u>Aminokyseliny</u>	Inzulin	<u>Vitaminy</u>
Alanin	Progesteron	<u>a stopové prvky</u>
Arginin	Testosteron	Kyselina askorbová
Asparagin	Beta-estradiol	Kyselina listová
Kyselina asparagová	Hydrokortison	Nikotinamid
Cystein	<u>Ostatní</u>	Riboflavin
Kyselina glutamová	Biotin	Thiamin
Glutamin	Ethylalkohol	Kyselina pantothenová
Glycin	Thyronin	Kobalamin
Histidin	<u>Antioxidant</u>	Pyridoxin
Isoleucin	Kyselina thioktová	<u>Soli a ionty</u>
Leucin		Chlorid sodný
Lysin	<u>Nukleové kyseliny</u>	Seleničitan sodný
Methionin	Deoxyadenosin	Chlorid vápenatý
Fenylalanin	Deoxycytidin	Cholinchlorid
Prolin	Deoxyguanosin	Chlorid draselný
Serin	Adenosin	Síran hořečnatý
Threonin	Cytidin	Fosforečnan sodný
Tryptofan	Guanosin	<u>Pufr</u>
Tyrosin	Thyminid	Hydrogenuhličitan sodný
Valin	Uridin	
<u>Proteiny, hormony a růstové faktory</u>	<u>Energetické</u>	
Fetální bovinní sérum (FBS)	<u>substátů</u>	<u>Antibiotikum</u>
Bovinní telecí sérum	<u>Glukóza</u>	Gentamicin-sulfát
Fibroblastový růstový faktor (FGF)	Pyruvát	<u>Voda</u>
	Insolot	V kvalitě vody pro injekci
	<u>Indikátor pH</u>	
	Fenolová červeně	

ZAJÍŠTĚNÍ 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 mykoplasmatza. CHANG Medium D je sterilizováno filtrací o jemnosti 0,1 mikronu. Vzorky CHANG Medium D jsou testovány na možnou bakteriální kontaminaci podle protokolu testování sterility popsaného 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. CHANG Medium D obsahuje antibiotikum gentamicinsulfát (50 µg/ml). Podle potřeby lze přidat další 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

Použití média CHANG Medium D k primokultivaci: metody *in situ*

1. Odstředění plodové vody při nízkých otáčkách koncentruje 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 sklíčko (celkem 4 krycí sklíčka) nebo 2 ml na kultivační lahvičku.

3. Inkubujte kultury nerušeně při teplotě 37 °C 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 čerstvým 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 živiny médium CHANG Medium D den před sběrem.

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

1. Odstředění plodové vody při nízkých otáčkách koncentruje 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 v atmosféře s 5 % – 8 % CO₂.
4. 5. den zkontrolujte růst. Nahradte 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 živiny médium 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.

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 vloženíem kyseliny s mírně uvolněným uzávěrem do inkubátoru s atmosférou 5 % – 8 % CO₂ přibližně na 30 minut.

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

CHANG Medium D obsahuje antibiotikum gentamicinsulfát. Vhodným preventivním postupem ověřte, že pacientka není senzitivní na toto antibiotikum.

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 balením.

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

DANSK

INDIKATIONER FOR ANVENDELSE

CHANG Medium D med gentamicin kan anvendes til følgende applikationer:

1. Primær dyrkning af amnionvæskeceller
2. Dyrkning af passerede amnionvæskeceller
3. Dyrkning af knoglemarvsceeller
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).

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

BESKRIVELSE AF PRODUKTET

CHANG Medium D blev udviklet til primær dyrkning af humane amnionvæskeceller til karyotypbestemmelse og anden antenatal genetisk testning. Denne formulering er optimeret til metodologi der såvel kolbe som in situ. CHANG Medium D indeholder antibiotikummet gentamicinsulfat (50 µg/ml).

KOMPONENTER		
<i>Aminosyrer</i>	Testosteron	<i>Vitaminer og</i>
Alanin	Beta-østradiol	<i>sporelementer</i>
Arginin	Hydrokortison	Ascorbinsyre
Asparagin		Folinsyre
Asparaginsyre	<i>Andet</i>	Nicotinamid
Cystein	Biotin	Riboflavin
Glutaminsyre	Ethylalkohol	Thiamin
Glutamin	Thyronin	Thiotiaminsyre
Glycin		Cobalamin
Histidin	<i>Antioxidant</i>	Pyridoxin
Isoleucin	Thiocytre	
Leucin		
Lysin	<i>Nukleinsyrer</i>	
Methionin	Deoxyadenosin	
Phenylalanin	Deoxycytidin	
Prolin	Deoxyguanosin	
Serin	Adenosin	
Threonin	Cytidin	
Tryptofan	Guanosin	
Tyrosin	Thyminid	
Valin	Uridin	

<i>Proteiner, hormoner og vækstfaktorer</i>	<i>Energisubstrater</i>	<i>Buffer</i>
Fetalt bovint serum (FBS)	Glukose	Natrium-
Kalveserum	Pyruvat	bikarbonat
fibroblasti-	Insolot	
kasvuteikjå (FGF)	<i>Antibiotikum</i>	
	Gentamicin-sulfat	
	<i>pH-indikator</i>	
	Rød fenol	

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 mykoplasma. CHANG Medium D er steriliseret ved filtrering gennem et filter på 0,1 mikron. Prøver af CHANG Medium D testes for potentiel bakterielogisk kontaminering ifølge protokollen for sterilitetstestning som beskrevet i den aktuelle USP-sterilitetstest <71>.

KLARGØRING

1. Opfør hurtigt CHANG Medium D ved at hvirvle flasken i et 37 °C vandbad.
2. CHANG Medium D indeholder antibiotikummet gentamicinsulfat (50 µg/ml). Der kan eventuelt tilføjes ekstra antibiotika.

AFMÅLING AF CHANG MEDIUM D

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

BRUGSANVISNING

Anvendelse af CHANG Medium D til primære kulturer: *In situ*-metodologier

1. Centrifuger amnionvæsken ved lav hastighed for at koncentrere cellerne.
2. Resuspendér 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 resuspendér. 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 kulturerens 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. Kontrollér kulturerens 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. Resuspendér cellepelleten i en lille volumen af patientens egen amnionvæske. Aspirer f.eks. supernatanten fra 10 ml centrifugeret amnionvæske til 1 ml over cellepelleten, og resuspendér. 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. Kontrollér væksten på dag 5. Udskift mediet med friskt CHANG Medium D, og høst, hvis der observeres tilstrækkelig cellevækst.
5. Kontrollér kulturerens vækst, og udskift mediet fuldstændigt hver dag herefter, indtil der observeres nok kolonier, som er klar til at blive høstet.
6. De bedste resultater opnås, hvis kulturerne forsynes med CHANG Medium 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.

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 løsnat let i ca. 30 minutter.

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

CHANG Medium D indeholder antibiotikummet gentamicinsulfat. Passende forholdsregler skal overholdes for at sikre, at patienten ikke er sensibileret mod dette antibiotikum.

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 højest 2 gange efter åbning og opbevares opført ved 2-8 °C i 14 dage, uden at det påvirker dets virkning. Opbevaring længere end 14 dage forårsager.

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

KÄYTTÖAIE

Gentamysiiniä sisältävää CHANG Medium D -elatusainetta voidaan käyttää seuraaviin tarkoituksiin:

1. lapsivesisolujen primaariviljely
2. siirrostettujen lapsivesisolujen kasvattaminen
3. luuinstiisujen viljely
4. kiinteä amnionkalvokudos istukkabiopsiasta.

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

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

VÄLINEEN KUVAU

CHANG Medium D kehitettiin ihmisen lapsivesisolujen primaariviljelyyn karyotyypin määrittämistä ja muita syntymää edeltäviä geneettisiä testejä varten. Koostumus on optimoitu sekä viljelypölu- että in situ -menetelmiä varten. CHANG Medium D sisältää gentamysiinisulfaatti-antibioottia (50 µg/ml)

AINESOSAT

<i>Aminohapot</i>	beetaestrioli	foolihappo
alanini	hydrokortisoni	nikotiiniamidi
arginiini		riboflaviini
asparagiini	<i>Muut</i>	tiamiini
asparagiinihappo	biotiini	panoteeniinihappo
kysteiini	etanoli	kobalamini
glutamiinihappo	tyroniini	pyridoksiini
glutamiini		
glysiini	<i>Antioksidantti</i>	<i>Suolat ja ionit</i>
histidiini	tioktiinihappo	natriumkloridi
isoleusiini		natriumseleniitti
leusiini	<i>Nukleinihapot</i>	kalsiumkloridi
lyysiini	deoksadenosini	koliinikloridi
metioniini	deoksytyidiini	kaliumpkloridi
fenyylialaniini	deoksyguanosini	magnesiumsulfaatti
seriini	adenosiini	natriumfosfaatti
treoniini	tyidiini	
tryptofaani	guanosini	
tyrosiini	tymidini	<i>Puskuri</i>
valiini	uridiini	natrium-
		bikarbonaatti

<i>Proteiinit, hormoniit ja kasvuteikjå</i>	<i>Energiasubstraatiit</i>	<i>Antibiootti</i>
naudan sikion seerumi (FBS)	glukoosi	gentamysiini-sulfaatti
vaikan seerumi fibroblastika-svuteikjå (FGF)	pyruvaatti	
insuliini	insoloti	
<i>pH-indikaattori</i>	<i>Vitamiinit</i>	<i>Vesi</i>
fenolipuna	askorbiinihappo	injektionesteisiin tarkoitetun veden laatuinen
progesteroni		
testosteroni		

KÄYTÖN VALMISTELU

1. Sulata CHANG Medium D -elatusaine nopeasti, 37 °C:n vesihuuteassa pulloa pyörittäen.
2. CHANG Medium D sisältää gentamysiinisulfaatti-antibioottia (50 µg/ml). Haluttaessa voidaan lisätä muita antibiootteja.

CHANG MEDIUM D -RAVINTOLISÄN JAKAMINEN ERIIN

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

KÄYTTÖOHJEET

CHANG Medium D -liuksen käyttäminen primaariviljelmiin: *in situ* -menetelmät

1. Konsentroi solut sentrifugoimalla lapsivettä pienellä nopeudella.
2. Suspendoi solusakka pieneen määrään potilaan omaa lapsivettä. Jos esimerkiksi 10 ml:n lapsivesinäyte sentrifugoidaan, aspiroi supernatanttia pois niin, että solusakan yläpuolelle jää 0,5 ml, ja suspendoi näyte uudeelleen. Lisää riittävästi CHANG Medium D -liusta konsentroituu solususpensioon, niin että lopullinen

maljaustilavuus on 0,5 ml / peitinlasia (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 -liusta päivänä 2.
5. Viljelminen kasvu on tarkistettava 4–5 päivän kuluttua. Viljelmiä on ravittava, kun kasvu on havaittu. Ravitse viljelmiä poistamalla koko viljelmäsurnatantti ja korvaamalla se 2 ml:lla tuoretta CHANG Medium D -liusta. On suositeltavaa, että viljelmiä ravitaan tämän jälkeen 2 päivän välein.
6. Tarkista viljelminen 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 -liuksen käyttäminen primaariviljelmiin: Pullonometelmät

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

CHANG Medium D -liuksen käyttäminen siirrostettujen lapsivesisolujen kasvattamiseen: Siirrosta solut käsittelemällä viljelmät trypsiinillä (tai pronasailla jne.) kuten normaalisti, kun soluja kasvatetaan perinteisessä elatusaineessa. Proteaaskäsittelyä on kuitenkin välttävattä huolella. CHANG Medium D -liuksessa kasvatetut lapsivesisolut ovat herkkiä proteaaskäsittelylle kuin perinteisessä elatusaineessa kasvatetut lapsivesisolut. Kasvatusunetelmää on ehkä muutettava tämän huomioon ottamiseksi.

Viljelminen ravitsemiseen käytettävän liuksen 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 % CO₂-lämpökaappiin korkki hieman löysällä noin 30 minuutin ajaksi.

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

CHANG Medium D sisältää gentamysiinisulfaatti-antibioottia. Tarkoituksenmukaisia varokeinoja tulee käyttää sen varmistamiseksi, ettei potilas ole herkistynyt kyseiselle antibiootille.

SÄILYTTÄMINEN JA STABILU

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

Suojaa loistevalaisimen valolta.

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

VAROITOMET JA VAROITUKSET

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

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

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

- LATVISKI
- LIETOŠANAS INDIKĀCIJA
- „CHANG Medium D” (Čanga barotni D) ar gentamicīnu var lietot tālāk minētajos 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 bārkstiju parauga izmeklēšanā.

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

Galīgajam pH līmenim jābūt 6,8–7,2.

IERĪCES APRAKSTS

„CHANG Medium D” izstrādāja cilvēka augļa ūdens šūnu primārajai kultivēšanai, lai veiktu kariotipu noteikšanas un citus antenatālos ģenētiskos testus. Šīs sastāvs ir optimizēts izmantošanai gan ar flakona, gan *in situ* metodēm. „CHANG Medium D” satur antibiotiku gentamicīna sulfātu (50 µg/ml).

SASTĀVDAĻAS

Aminoskābes	Insulīns	Vitamīni un mikroelementi
Alanīns	Progesterons	Askorbīnskābe
Arginīns	Testosterons	Folijskābe
Asparagīns	Bēta estradiols	Nikotīnamīds
Asparagīnskābe	Hidrokortizons	Riboflavīns
Cisteīns		Tiamīns
Glutamīnskābe	Citas	Pantotēnskābe
Glutamīns	Biotīns	Kobalamīns
Glicīns	Etilspirts	Pinidoksīns
Histidīns	Tironīns	
Izoleicīns	Antioksidants	Sāļi un joni
Leicīns	Tiokīnskābe	Nātrija hlorīds
Lizīns		Nātrija selenīts
Metionīns	Nukleīnskābes	Kalcija hlorīds
Fenilalanīns	Dezoksiaadenozīns	Holīna hlorīds
Prolīns	Dezoksiciditīns	Kālija hlorīds
Serīns	Dezoksiguanozīns	Magnija sulfāts
Treonīns	Adenozīns	Nātrija fosfāts
Triptofāns	Citidīns	
Tirozīns	Guanozīns	Buferšķīdums
Valīns	Timidīns	Nātrija
	Uridīns	bikarbonāts
Proteīni, hormoni un augšanas faktori	Enerģijas substrāti	Antibiotikas
Liellopu embriju serums (<i>fetal bovine serum</i> – <i>FBS</i>)	Glikoze	Gentamicīna sulfāts
Liellopu tetu serums	Piruvāts	
Fibroblastu augšanas faktors (<i>fibroblast growth factor</i> – <i>FGF</i>)	Inozitols	Ūdens
	pH indikators	Injekciju ūdens
	Fenolsarkanais	(<i>WFI</i>) kvalitāte

KVALITĀTES NODROŠINĀŠANA

STERILITĀTE

„CHANG Medium D” ražošanā izmantotais serums pārbaudīts, lai noteiktu virusālo piesārņojumu, saskaņā ar nosacījumiem Federālo normatīvo aktu kodeksa (*Code of Federal Regulation* – *CFR*) 9. sadaļas 113.53. nodaļā. Tas ir testēts arī mikoplazmai, „CHANG Medium D” ir sterilizēta, filtrējot caur 0,1 mikronu filtru. „CHANG Medium D” paraugi pārbaudīti, lai noteiktu iespējamu 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. „CHANG Medium D” satur antibiotiku gentamicīna sulfātu (50 µg/ml). Ja vēlams, var pievienot papildu antibiotikas.

- „CHANG MEDIUM D” DALĪŠANAALIKVOTAJĀS DAĻĀS
1. Atkausējiet „CHANG Medium D” atbilstoši norādījumiem.

2. Aseptiskā veidā sadaliet piemērota lieluma alikvotajās daļās un atkārtoti sasaldējiet.

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

LIETOŠANAS NORĀDĪJUMI

„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, aspirējiet 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 galīgo 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.

6. 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, aspirējiet 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.

6. Pēc tam katru dienu pārbaudiet kultūru augšanu un pilnībā nomainiet barotni, līdz novēro pietiekama apjoma kolonijas un šūnas ir gatavas ievākšanai.

7. 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 apstrādājiēt ar tripsīnu (vai pronāzi u. c.), kā to parasti darītu, ja šūnas tiktu audzētas standarta 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 standarta barotnē audzētām augļa ūdens šūnām. Lai šo ņemtu vērā, iespējams, jāpārveido protokols.

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 valīgāk uzlikto aizbāzni uz apmēram 30 minūtēm ievietojot 5–8 % CO₂ inkubatorā.

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

„CHANG Medium D” satur antibiotiku gentamicīna sulfātu. Lai izvairītos no paaugstinātas pacienta jutības pret šo antibiotiku, jāveic atbilstoši piesardzības pasākumi.

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 atkausētu 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 iesaiņojums.

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

NEDERLANDS

INDICATIE VOOR GEBRUIK

CHANG Medium D met gentamicine kan worden gebruikt voor de volgende toepassingen:

1. de primaire kweek van vruchtwatercellen

2. het groeien van gepasseerde vruchtwatercellen

3. de kweek van beemercellen

4. vast amnionweefsel van een chorionvillusbioopsie.

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

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

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. CHANG Medium D bevat het antibioticum gentamicinesulfaat (50 µg/ml).

COMPONENTEN

Aminozuren	Testosteron	Nicotinamide
Alanine	Bēta-oestradiol	Riboflavine
Arginine	Hydrocortison	Thiamine
Asparagine		Pantotheenzuur
Asparaginezuur	Overige	Cobalamine
Cysteïne	Biotine	Pyridoxine
Glutaminezuur	Ethylalcohol	
Glutamine	Thyronine	Zouten en ionen
Glycine		Natriumchloride
Histidine	Antioxidant	Natriumseleniet
isoleucine	Alfa-liponzuur	Calciumchloride
Leucine		Cholinechloride
Lysine	Nucleïne-zuren	Kaliumchloride
Methionine	Deoxyadenosine	Magnesium-sulfaat
Tenylalanine	Deoxycytidine	Natriumfosfaat
Proline	Deoxyguanosine	
Serine	Adenosine	Buffer
Treonine	Cytidine	Natrium-bicarbonaat
Tryptofaan	Guanosine	
Tyrosine	Thymidine	Antibioticum
Valine	Uridine	Gentamicine-sulfaat
Eiwitten, hormonen en groeifactoren	Energiesubstraten	
Foetaal runderserum (FBS)	Glucose	Water
Runderkalfs-serum	Pyruvaat	Farmaceutisch kwaliteitswater (WFI)
Fibroblast groeifactor (FGF)	Inositol	
Progesteron	pH-indicator	
	Fenolrood	
	Vitaminen en sporelementen	
	Ascorbinezuur	
	Foliumzuur	

KWALITEITSBORGING

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 mycoplasma. CHANG Medium D is gesteriliseerd door middel van filtratie door een 0,1µm-filter. Monsters van CHANG Medium D zijn getest op mogelijke bacteriologische besmetting volgens het sterilitestestprotocol beschreven in de huidige Amerikaanse Farmacopee (USP) sterilitestest <71>.

VOORBEREIDING OP HET GEBRUIK

1. Ontdooi CHANG Medium D snel door de fles in een waterbad van 37 °C rond te draaien.

2. CHANG Medium D bevat het antibioticum gentamicinesulfaat (50 µg/ml). Aanvullende antibiotica kunnen desgewenst worden toegevoegd.

OPDELEN VAN CHANG MEDIUM D

1. Ontdooi CHANG Medium D volgens de aanwijzingen.

2. Verdeel op aseptische wijze in praktische hoeveelheden en vries deze opnieuw in.

3. Ontdooi de delen net voor gebruik in een waterbad van 37 °C.

GEBRUIKSAANWIJZING

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

1. Centrifugeer het vruchtwater op lage snelheid om de cellen te concentreren.

2. 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.

3. Zet de kweken ongestoord in de incubator bij 37 °C en 5%-8% CO₂-atmosfeer.

4. Bedek de kweken op dag 2 volledig door 2 ml CHANG Medium D toe te voegen.

5. 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.

6. Controleer de kweken op of na dag 5 op groei en oogst als er voldoende koloniën worden waargenomen.

7. 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

1. Centrifugeer het vruchtwater op lage snelheid om de cellen te concentreren.

2. 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.

3. Zet de kweken ongestoord in de incubator bij 37 °C en 5%-8% CO₂-atmosfeer.

4. Controleer de groei op dag 5. Vervang het medium door vers CHANG Medium D en oogst als er voldoende celgroei is waargenomen.

5. Controleer daarna elke dag of de kweken gegroeid zijn en vervang het medium volledig tot er voldoende koloniën worden waargenomen die kunnen worden geoogst.

6. De beste resultaten worden verkregen als de 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.

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.

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.

CHANG Medium D bevat het antibioticum gentamicine-sulfaat. Passende voorzorgsmaatregelen dienen te worden genomen om er zeker van te zijn dat de patiënt niet gevoelig is voor dit antibioticum.

BEWAREN EN STABILITEIT

Bewaar CHANG Medium D bevoren 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 ontdooid 14 dagen worden bewaard bij een temperatuur van 2 °C tot 8 °C zonder dat dit de werking beïnvloedt. Het wordt afgeraden het product langer dan 14 dagen te bewaren.

VOORZORGSMAATREGELEN EN WAARSCHUWINGEN

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

Gebruik geen flessen waarvan de steriele verpakking beschadigd is.

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

POLSKI

PRZEZNACZENIE

Pożywką CHANG Medium D z gentamycyną może być stosowana w przypadku:

- 1. hodowli pierwotnej komórek płynu owodniowego,
- 2. wzrostu pasażowanych komórek płynu owodniowego,
- 3. hodowli komórek szpiku kostnego,
- 4. litej tkanki owodniowej z biopsji kosmków kosmków.

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

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

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. Pożywką CHANG Medium D zawiera antybiotyk w postaci siarczanu gentamycyny (50 µg/ml).

SKŁADNIKI		
<u>Aminokwasy</u> Alanina Arginina Asparagina Kwas asparaginowy Cysteina Kwas glutaminowy Glutamina Glicyna Histydyna Izoleucyna Leucyna Lizyna Metionina Feniloalanina Prolina Seryna Treonina Tryptofan Tyrozyna Walina	Testosteron Beta-estradiol Hydrokortyzon Inne Biotyna Alkohol etylowy Tyronina <u>Antyoksydant</u> Kwas tioktanowy <u>Kwasy nukleinowe</u> Deoksyadenozyna Deoksytydyna Deoksyguanozyna Adenozyna Cytidyna Guanozyna Tymidyna Urydyna <u>Substraty energetyczne</u> Glukoza Pirogronian Inozytol <u>Wskaźnik pH</u> Czerwień fenolowa <u>Woda</u> Woda o jakości WFI	<u>Witaminy i pierwiastki śladowe</u> Kwas askorbinowy Nikotynamid Ryboflawina Tiamina Kwas pantotenowy Kobalamina Pirydoksyna <u>Sole i jony</u> Chlorek sodu Selenian sodu Chlorek wapnia Chlorek cholinny Chlorek potasu Siarczan magnezu Fosforan sodu <u>Bulor</u> Wodorowęglan sodu <u>Antybiotyki</u> Siarczan gentamycyny <u>Woda</u> Woda o jakości WFI
<u>Białka, hormony, i czynniki wzrostu</u> Płodowa surowica bydlęca (FBS) Surowica cielęca Czynniki wzrostu fibroblastów (FGF) Insulina Progesteron		

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 mikrona. Probki 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

- 1. Szybko rozmrozić pożywkę CHANG Medium D, obracając butelkę ruchem wirowym w łaźni wodnej nastawionej na temperaturę 37°C.
- 2. Pożywką CHANG Medium D zawiera antybiotyk w postaci siarczanu gentamycyny (50 µg/ml). W razie potrzeby można dodać dodatkowe antybiotyki.

ROZDZIELANIE POŻYWKI CHANG MEDIUM D NA PORCJE

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

INSTRUKCJA UŻYCIA

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

- 1. Odwirować płyn owodniowy przy niskiej prędkości, aby zażyć komórki.
- 2. Zawiesić osad komórkowy w małej objętości płynu owodniowego pacjenta. 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 zażęzonej zawiesziny komórkowej, aby uzyskać końcową objętość posiewu równą 0,5 ml na szkiełko nakrywkowe (łącznie 4 szkiełka nakrywkowe) lub 2 ml na butelkę hodowlaną.
- 3. Inkubować hodowle w temperaturze 37°C w atmosferze 5%–8% CO₂, nie zakłócając ich.
- 4. W dniu 2. zalać hodowle, dodając 2 ml pożywki CHANG Medium D.
- 5. Po 4–5 dniach sprawdzić wzrost hodowli. Po zaobserwowaniu wzrostu należy zasilić hodowle pożywką. Zasilać hodowle 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.
- 6. Sprawdzić wzrost hodowli w 5. dniu lub w późniejszych dniach i zebrać komórki, jeśli zaobserwowano wystarczającą liczbę kolonii.
- 7. Najlepsze wyniki otrzymywano, gdy zasilano hodowle pożywką CHANG Medium D dzień przed zbiorom.

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

- 1. Odwirować płyn owodniowy przy niskiej prędkości, aby zażyć komórki.
- 2. Zawiesić osad komórkowy w małej objętości płynu owodniowego pacjenta. 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.
- 3. Inkubować hodowle w temperaturze 37°C w atmosferze 5%–8% CO₂, nie zakłócając ich.
- 4. Sprawdzić wzrost hodowli w 5. dniu. Zmienić pożywkę na świeżą pożywkę CHANG Medium D i zebrać komórki, jeśli zaobserwowano wystarczający wzrost komórek.
- 5. Po wykonaniu tej czynności codziennie sprawdzać wzrost hodowli i całkowicie wymieniać pożywkę do czasu zaobserwowania wystarczającej liczby kolonii gotowych do zbioru.
- 6. Najlepsze wyniki otrzymywano, gdy zasilano hodowle pożywką CHANG Medium D dzień przed zbiorom.

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

Aby wykonać pasaż komórek, poddać hodowle działaniu trypsyny (lub pronazy itp.), w taki sam sposób, jak w przypadku komórek rosnących w pożywce standardowej. Jednakże należy 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.

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.

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

Pożywką CHANG Medium D zawiera antybiotyk w postaci siarczanu gentamycyny. Należy zastosować odpowiednie środki ostrożności w celu upewnienia się, że pacjentka nie jest uczulona na tego rodzaju antybiotyki.

PRZECHOWYWANIE I STABILNOŚĆ

Przechowywać pożywkę CHANG Medium D zamrożoną w temperaturze -10°C. Niez użytą 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 sterylne opakowanie zostało naruszone.

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

INDICAȚIE DE UTILIZARE

CHANG Medium D cu gentamicină se poate utiliza pentru următoarele întrebuintări:

- 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 vili chorionici colectate.

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

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

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. CHANG Medium D conține antibioticul sulfat de gentamicină (50 µg/ml)

COMPONENTE		
<u>Aminoacizi</u> Alanină Arginină Asparagină Acid aspartic Cisteină Acid glutamic Glutamină Glicină Histidină Izoleucină Leucină Lizină Metionină Fenilalanină Prolină Serină Treonină Tryptofan Tirozină Valină	Beta-estradiol Hydrocortizon <u>Altul</u> Biotină Alcool etilic Tironină <u>Antioxidant</u> Acid tiotic <u>Acizi nucleici</u> Deoxadenozină Deoxicitidină Deoxiguanozină Adenozină Citidină Guanozină Timidină Uridină <u>Substraturi energetice</u> Glucoză Piruvat Inozitol <u>Indicator pH</u> Roșu de fenol <u>Vitamine și oligoelemente</u> Acid ascorbic Acid folic	Nicotinamidă Riboflavină Tiamină Acid pantotenic Cobalamina Piridoxină <u>Săruri și ioni</u> Clorură de sodiu Selenit de sodiu Clorură de calciu Clorură de colină Clorură de potasiu Sulfat de magneziu Fosfat de sodiu <u>Solute tampon</u> Bicarbonat de sodiu <u>Antibiotic</u> Sulfat de gentamicină <u>Apă</u> Calitate WFI (water for injection) [apă sterilă pentru injecții]

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 microni. Probe de CHANG Medium D sunt testate pentru a nu prezenta o posibilă contaminare bacteriologică urmând 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. CHANG Medium D conține antibioticul sulfat de gentamicină (50 µg/ml). Dacă se dorește, se pot adăuga antibiotice suplimentare.

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

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 flaconaș.
- 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. Hărniți 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.

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 gălbui-somon). pH-ul poate fi ajustat cu ușurință punând mediul într-un incubator de 5%-8% CO₂ cu capacul ușor slabit timp de aproximativ 30 de minute.

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.

CHANG Medium D conține antibioticul sulfat de gentamicină. Trebuie luate măsurile de precauție adecvate pentru a vă asigura că pacientul nu este alergic la antibioticul acesta.

DEPOZITARE ȘI STABILITATE

Depozitați CHANG Medium D congelat la -10°C. CHANG Medium D neutlizat 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 med gentamicin kan användas för följande tillämpningar:
1. primärödlng av celler i amnionvätska
 2. odling av celler från amnionvätska från passage
 3. odling av benmärgsceller
 4. fast amnionvävnd från chorionvillibliosi.

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

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

PRODUKTBESKRIVNING

CHANG Medium D har utvecklats för primärödlng av celler i human amnionvätska för karyotyp-bestämning och andra antenatala genetiska tester. Denna näringslösning har optimerats för både flask- och in situ-metoder. CHANG Medium D innehåller antibiotikat gentamicinsulfat (50 µg/ml).

KOMPONENTER			
Aminosyror	Insulin	Vitaminer och spårämnen	
Alanin	Progesteron	Askorbinsyra	
Arginin	Testosteron	Folsyra	
Asparagin	Betaöstradiol	Nikotinamid	
Asparaginsyra	Hydrokortison	Riboflavin	
Cystein		Tiamin	
Glutaminsyra	Övrigt	Pantotensyra	
Glutamin	Biotin	Kobalamin	
Glycin	Etylalkohol	Pyridoxin	
Histidin	Tyronin		
Isoleucin			
Leucin	Antioxidant	Salter och joner	
Lysin	Tioktinsyra	Natriumklorid	
Metonin		Natriumselenit	
Fenylalanin	Nukleinsyror	Kalciumklorid	
Prolin	Deoxiadenosin	Kolinklorid	
Serin	Deoxicytidin	Kaliumklorid	
Treonin	Deoxiguanosin	Magnesiumsulfat	
Tryptofan	Adenosin	Natriumfosfat	
Tyrosin	Cytidin		
Valin	Guanosin	Buffert	
	Tymidin	Natriumbikarbonat	
	Uridin		
Proteiner, hormoner samt tillväxtfaktorer	Energisubstrat	Antibiotikum	
Fetalt bovint serum (FBS)	Glukos	Gentamicinsulfat	
Serum från kalvar	Pyruvat	Vatten	
Fibroblast-tillväxtfaktor (FGF)	Inositol	Vatten för injektion (WFI)	
	pH-indikator		
	Fenolrött		

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 mykoplasma. CHANG Medium D har steriliserats med hjälp av filtrering genom ett 0,1 mikronfilter. 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. CHANG Medium D innehåller antibiotikat gentamicinsulfat (50 µg/ml). Ytterligare 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

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 nogå 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. Ert protokoll kan behöva modifieras för att ta hänsyn till detta.

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.

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

CHANG Medium D innehåller antibiotikat gentamicinsulfat. Adekvata försiktighetsåtgärder ska vidtas för att säkerställa att patienten inte är allergisk mot detta antibiotikum.

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.

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

EESTI KEEL

NÄIDUSTUS KASUTAMISEKS

Toodet CHANG Medium D gentamitsiiniga võib kasutada järgmistel eesmärkidel:

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

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

pH lõppnäit peab olema 6,8–7,2.

SEADME KIRJELDUS

CHANG Medium D töötab välja inimese lootevedeliku rakkude primaarseks kultuurimiseks kariotüüpimise ja muude sünnieelsete geneetiliste testide tegemise eesmärgil. Koostis on optimeeritud nii rakukasvatuspudelites kui ka *in situ* metodoloogiateks. CHANG Medium D sisaldab antibiootikumi gentamitsiinsulfaat (50 µg/ml).

OSAD		
Aminohapped	Testosteroon	Vitaminid ja mikroelemendid
Alanin	Beeta-östradiool	Askoorbihape
Argiin	Hüdrokortisoon	Foolhape
Asparagiin		Nikotiinamiid
Asparaginhape	Muu	Riboflaviin
Tsüstein	Biotiin	Tiamiin
Glutamiinhape	Etüülalkohol	Pantoteenhape
Glutamiin	Türoiniin	Kobalamin
Glütsiin		Püridoksiin
Histidiin	Antioksiüdant	
Isoleutsiin	Lipohape	
Leutsiin		Sodlad ja ioonid
Lüsiin	Nukleiinhapped	Naatriumkloriid
Metioniin	Deoksüadenosiin	Naatriumseleniit
Proliin	Deoksütüidiin	Kaltsiumkloriid
Fenüüalanin	Deoksüguanosiin	Kolinkloriid
Seriin	Adenosiin	Kaaliumkloriid
Treoniin	Tsütidin	Magnesium-sulfaat
Trüptofaan	Guanosiin	Naatriumfosfaat
Türosiin	Tümidin	
Valiin	Uridiin	
Valgud, hormoonid ja kasufaktorid	Energia subst-raadid	Puhver
Veiselote päritolu seerum (FBS)	Glükooks	Naatriumvesinik-karbonaat
Vasika päritolu seerum	Püruvaat	Antibiootikum
Fibroplastide kasufaktor (FGF)	Inositol	Gentamitsiinsulfaat
Insuliin	pH-indikaator	
Progesteroon	Fenoolpunane	Vesi
		WFI kvaliteet

KVALITEEDI TAGAMINE

STERIILSUS

CHANG Medium D tootmisel kasutatav seerum on testitud viraalse 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 µm filtri. Toote CHANG Medium D proove on võimaliku bakterioloogilise saaste suhtes testitud, järgides steriilsuse katseprotokoll, mida on kirjeldatud kehtivas USP steriilsustestis <71>.

ETTEVALMISTUSED KASUTAMISEKS

1. Sulatage CHANG Medium D kiirelt, keerutades pudelit 37 °C veevannis.
2. CHANG Medium D sisaldab antibiootikumi gentamitsiinsulfaat (50 µg/ml). 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

Toote CHANG Medium D kasutamine primaarkultuuride korral: *in situ* metodoloogiad

1. Tsentrifuugige lootevedelikku väiksel kiirusel, et rakke kontsentreerida.
2. Resuspendeerige rakupellet väheses patsiendi enda lootevees. Näiteks võite aspireerida 10 ml tsentrifuugitud lootevedeliku supernatanti 0,5 ml võrra rakupelleti kohale ja resuspendeerida. 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 tootega 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 toitmisel tootega CHANG Medium D üks päev enne kogumist.

Toote CHANG Medium D kasutamine primaarkultuuride korral: Rakupudeli metodoloogiad

1. Tsentrifuugige lootevedelikku väiksel kiirusel, et rakke kontsentreerida.
2. Resuspendeerige rakupellet väheses patsiendi enda lootevees. Näiteks võite aspireerida 10 ml tsentrifuugitud lootevedeliku supernatanti 1 ml võrra rakupelleti kohale ja resuspendeerida. 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 sõdde värsket CHANG Medium D vastu ja koguge, kui tuvastate piisava rakukasvu.
5. Kontrollige kultuure kasvu suhtes ja vahetage seejärel sõdde iga päev täielikult välja, kuni tuvastate piisavad kolooniad, mis on kogumiseks valmis.
6. Parimad tulemused saavutatakse kultuuride toitmisel tootega CHANG Medium D üks päev enne kogumist.

Toote CHANG Medium D kasutamine tõstetud lootevedeliku rakkude kasvatamiseks:

Rakkude tõstmiseks töödelge kultuure trüpsiiniga (või pronasiga vms) nagu tavapärasel rakkude kasvatamisel tavalises söötmes. Proteaasiga töötlemist tuleb hoolikalt jälgida. CHANG Medium D-s töödeldud lootevedeliku rakud kipuvad olema proteaasitöötluse suhtes tundlikumad kui tavapärases söötmes kasvatatud lootevedeliku rakud. Sellega arvestamiseks tuleb võib-olla muuta protokoll.

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

Märkus. Tootes CHANG Medium D tekib sageli kaltsiumoksalaadi kristalle. Nende kristallide esinemine ei ole põhjustanud kahjulikku toimet toote jõudlusele.

CHANG Medium D sisaldab antibiootikumi gentamitsiinsulfaat. Tuleb rakendada sobivad ettevaatusabinõusid, et patsient ei oleks selle antibiootikumi suhtes ülitundlik.

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 fluorestantsvalguse eest.

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

ETTEVAATUSABINÕUD JA HOIATUSED

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

Ärge kasutage ühtegi pudelit, mille steriilne pakend on kahjustunud.

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

MAGYAR

FELHASZNÁLÁSI JAVALLATOK

A gentamicinnel kiegészített CHANG Medium D a következőkre használható:

- az amniotikus folyadék sejtleinek elsődleges tenyésztése;
- az amniotikus folyadék passzázt sejtleinek növesztése;
- csontvölősejtek tenyésztése;
- szilárd amniionszövet mintavételezése chorion-bolyhokból.

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

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

TERMÉKISMERTETÉS

A CHANG Medium D a humán amniotikus folyadék sejtleinek elsődleges tenyésztésére lett kifejlesztve, kariotípus meghatározásához és más antenatális genetikai vizsgálatokhoz. Az összetételét flaska és *in situ* módszerekhez is optimalizálták. A CHANG Medium D gentamicin-szulfát antibiotikumot (50 µg/ml) tartalmaz.

ÖSSZETEVŐK

Aminosavak	(fibroblast growth factor, FGF)	Vitaminok és nyomelemek
Alanin	Inzulin	Aszkorbinsav
Arginin	Progesteron	Folsav
Aszparagin	Tesztoszteron	Nikotinamid
Aszparaginsav	Cisztein	Béta-ósztradiol
Cisztein	Glutaminsav	Hidrokortizon
Glutaminsav	Glutamin	
Glicin	Egység	
Hisztidin	Biotin	Pantoténsav
Izoleucin	Etil-alkohol	Kobalamin
Leucin	Tirozin	Pyridoxin
Lizin		Sók és ionok
Metionin	Antioxidáns	Nátrium-klorid
Fenilalanin	Tioktánsav	Nátrium-szelenit
Prolin		Kalcium-klorid
Szerin	Nukleinsavak	Kolin-klorid
Treonin	Dezoxi-adenozin	Kálium-klorid
Triptofán	Dezoxi-citidin	Magnézium-szulfát
Tirozin	Dezoxi-guanozin	Nátrium-foszfát
Valin	Adenozin	
	Citidin	Puffer
Fehérjék, hormonok és növekedési faktorok	Guanozin	Nátrium-bikarbonát
Magzati szarvasmarha szérum (fetal bovine serum, FBS)	Timidin	
	Uridin	Antibiotikum
Szarvasmarha borjú szérum	Energia: szubsztrátok	Gentamicin-szulfát
Fibroblaszt növekedési faktor	Glikóz	
	Piruvát	
	Inozitol	Víz
	pH-indikátor	Injekciósóhoz való minőségű víz
	Fenolvörös	

MINŐSÉGBIZTOSÍTÁS

STERILITÁS

A CHANG Medium D előállításához használt szérum vírusszennyeződését a CFR 9. címének 113.53 része szerint vizsgálták. A médium mikoplazma-tartalmát 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

- Olvassza fel gyorsan a CHANG Medium D médiumot az üveg 37 °C-os vízfürdőben történő forgatásával.
- A CHANG Medium D gentamicin-szulfát antibiotikumot (50 µg/ml) tartalmaz. Szükség esetén további antibiotikumokat is hozzáadhat.

A CHANG MEDIUM D SZÉTOSZTÁSA

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

HASZNÁLATI UTASÍTÁS

A CHANG Medium D felhasználása elsődleges tenyésztéshez: *In situ* módszerek

- Centrifugálja az amniotikus folyadékok alacsony sebességgel a sejtek koncentrálásához.
- Szuszpendálja fel újra a sejtpeletet a beteg saját amniotikus folyadékának kis mennyiségében. Például szívja fel 10 ml centrifugált amniotikus folyadék felülúszóját 0,5 ml-re a sejtpelet fölé, és szuszpendálja fel újra. Adjon elegendő CHANG Medium D médiumot a koncentrált sejtszuspenzióhoz úgy, hogy a végső szélesítési térfogat fedőlemezenként 0,5 ml (összesen 4 fedőlemez) vagy flaskánként 2 ml legyen.
- Inkubálja a tenyészeteket zavartalanul 37 °C-on, 5–8%-os CO₂-atmoszférában.
- Árassza el a tenyészeteket a 2. napon 2 ml CHANG Medium D hozzáadásával.
- 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 felülúszóját, és helyettesítse 2 ml friss CHANG Medium D médiummal. Javasljuk, hogy a tenyészeteket ezután 2 naponta táplálja.
- Ellenőrizze a tenyészetek növekedését az 5. napon vagy azt követően, és amikor elegendő kolónia figyelhető meg, végezze el az összegyűjtést.
- A legjobb eredmények úgy érhetők el, ha a tenyészeteket az összegyűjtés előtti napon CHANG Medium D médiummal táplálja.

A CHANG Medium D felhasználása elsődleges tenyésztéshez: Flaska módszerek

- Centrifugálja az amniotikus folyadékok alacsony sebességgel a sejtek koncentrálásához.
- Szuszpendálja fel újra a sejtpeletet a beteg saját amniotikus folyadékának kis mennyiségében. Például szívja fel 10 ml centrifugált amniotikus folyadék felülúszóját 1 ml-re a sejtpelet fölé, és szuszpendálja fel újra. Adjon 4 ml CHANG Medium D médiumot a flaskánként 5 ml-es teljes térfogathoz.
- Inkubálja a tenyészeteket zavartalanul 37 °C-on, 5–8%-os CO₂-atmoszférában.
- 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.
- 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.
- A legjobb eredmények úgy érhetőek el, ha a tenyészeteket az összegyűjtés előtti napon CHANG Medium D médiummal táplálja.

A CHANG Medium D felhasználása az amniotikus folyadék passzázt sejtjeinek növesztéséhez:

A sejtek passzálásához kezelje a tenyészeteket tripszinnel (vagy pronázással 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 sejtei általában érzékenyebbek a proteázkezelésre, mint a hagyományos médiumban növekvő sejtek. Ennek figyelembevételéhez szükséges lehet a protokoll módosítása.

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

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.

A CHANG Medium D gentamicin-szulfát antibiotikumot tartalmaz. Megfelelő elővigyázatossági intézkedéseket kell tenni, hogy megbizonyosodjon, a beteg nem szenzitizált erre az antibiotikumra.

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, felolvaszta 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 általai 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.

NAUDOJIMO INDIKACIJA

Gentamicinu papildyta „CHANG Medium D” terpė gali būti naudojama pagal tokią paskirtį:

- amniono skysčio ląstelių pirminiai kultūrai;
- auginant perkeltas amniono skysčio ląsteles;
- kaulų čiulpų ląstelių kultūrai;
- tvirtu amniono audiniui, gautam paėmus chorioninių išaugų (gaurelių) mėginius.

Ši terpė buvo sukurta naudoti CO₂ inkubatoriuose (ląstelių kultūros pusiausvyros būsena pasiekta naudojant 5–8 % CO₂ atmosferą).

Galutinis pH turi būti 6,8–7,2.

ĮTAISO APRAŠYMAS

„CHANG Medium D” terpė buvo sukurta žmogaus amniono skysčio ląstelių pirminiai kultūrai ir yra skirta naudoti atliekant kariotipavimą ir kitą prenatalinį genetinį tyrimą. Ši formulė buvo optimizuota kolbos ir *in situ* metodologijoms. „CHANG Medium D” terpės sudėtyje yra antibiotiko gentamicino sulfato (50 µg/ml)

SUDEDAMOSIOS DALYS

Aminorūgštys	Progesteronas	Vitaminai ir mikroelementai
Alaninas	Testosteronas	Askorbo rūgštis
Argininas	Beta estradiolis	Folio rūgštis
Asparaginas	Hidrokortizonas	Nikotinamidas
Asparto rūgštis		Riboflavinas
Cisteinas	Kita	Biotinas
Glutamo rūgštis	Biotinas	Pantotėninė rūgštis
Glutaminas	Etilo alkoholis	Kobalaminas
Glicinas	Tironinas	Pyridoksinas
Histidinas	Antioksidantas	
Izoleucinas	Lipo rūgštis	
Leucinas		Druskos ir jonai
Lizinas		Natrio chloridas
Metioninas	Nukleino rūgštys	Natrio selenitas
Fenilalaninas	Deoksiaadenozinas	Kalcio chloridas
Prolinas	Deoksitidinas	Cholino chloridas
Serinas	Dezoksiguanozinas	Kalio chloridas
Treoninas	Adenozinas	Magnio sulfatas
Triptofanas	Citidinas	Natrio fosfatas
Tirozinas	Guanozinas	
Valinas	Timidinas	Buferinis tirpalas
	Uridinas	Natrio bikarbonatas
Baltymai, hormonai ir augimo faktoriai	Energetiniai substratai	Antibiotikas
Jaučio embriono kraujo serumas (FBS)	Glukozė	Gentamicino sulfatas
Veršelio kraujo serumas	Piruvatas	
Fibroblas to augimo faktorius (FGF)	Inozitolis	
Insulinas	pH indikatorius	Vanduo
	Fenolio raudonasis	Injekcinio vandens kokybė

KOKYBĖS UŽTIKRINIMAS

STERILUMAS

„CHANG Medium D” terpės gamyboje naudotas serumas buvo patikrintas dėl užteršimo virusais pagal CFR 9 antraštinę dalį, 113.53 dalį. Taip pat patikrinta, ar jis neužkrėstas mikoplazmomis. „CHANG Medium D” terpė yra sterilizuota filtruojant per 0,1 mikrono filtrus. „CHANG Medium D” terpės mėginiai yra išbandyti bakteriologinio užkrėtimo rizikai nustatyti pagal šiuo metu patvirtintą Jungtinių Valstijų farmakopėjos (USP) sterilumo bandymų protokolą <71>.

PARUOŠIMAS NAUDOTI

- Atšildykite „CHANG Medium D” terpę, greitai sukdami buteliuką 37 °C temperatūros vandens vonelėje.
- „CHANG Medium D” terpės sudėtyje yra antibiotiko gentamicino sulfato (50 µg/ml). Prireikus galima pridėti papildomų antibiotikų.

„CHANG MEDIUM D” TERPĖS LAŠINIMAS

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

NAUDOJIMO NURODYMAI

„CHANG Medium D” terpės naudojimas pirminėms kultūroms: *in situ* metodai

- Centrifuguokite amniono skystį nedideliu greičiu, kad koncentruotumėte ląsteles.

- Resuspenduokite ląstėles granulę nedideliame kiekyje pacientės amniono skystyje. Pavyzdžiui, siurbkite 10 ml supernatanto iš centrifuguoto amniono skysčio, palikdami 0,5 ml virš ląstėles granulės, ir resuspenduokite. | koncentruotą ląstelių suspensiją pridėkite pakankamai „CHANG Medium D” terpės, kad galutinis po kiekvienos plokštelės dengiamuoju stikliu tenkantis tūris būtų 0,5 ml (iš viso 4 dengiamieji stikliai), arba po 2 ml vienam flakonėliui.
- Kultūras netrukdomai inkubuokite 37 °C temperatūroje 5 %–8 % CO₂ atmosferoje.
- 2-ąją dieną apsemkite kultūras, pridėdami 2 ml „CHANG Medium D” terpės.
- 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 2 ml šviežios „CHANG Medium D” terpės. Vėliau rekomenduojama kultūras maitinti kas 2 dienas.
- 5-ą dieną arba po 5 dienų patikrinkite kultūrų augimą ir aptikę pakankamai kolonijų ląsteles surinkite.
- Geriausiu rezultatu pasiekiami kultūras maitinant „CHANG Medium D” terpėje, likus dienai iki kultūrų ėmimo.

„CHANG Medium D” terpės naudojimas pirminėms kultūroms: Kolbos metodologijos

- Centrifuguokite amniono skystį nedideliu greičiu, kad koncentruotumėte ląsteles.
- Resuspenduokite ląstėlės granulę nedideliame kiekyje pacientės amniono skysčio. Pavyzdžiui, siurbkite 10 ml supernatanto iš centrifuguoto amniono skysčio, palikdami 1 ml virš ląstėlės granulės, ir resuspenduokite. Įplikite 4 ml „CHANG Medium D” terpės, kad kiekvienoje kolboje būtų po 5 ml.
- Kultūras netrukdomai inkubuokite 37 °C temperatūroje 5 %–8 % CO₂ atmosferoje.
- 5-ąją dieną patikrinkite augimą. Pakeiskite terpę šviežia „CHANG Medium D” terpe ir imkite kultūras, jei pastebėjote, kad užaugo pakankamai ląstelių.
- Tikrinkite kultūrų augimą ir kasdien visiškai keiskite terpę, kol pastebėsite, kad užaugo pakankamai kolonijų ir jas galima imti.
- Geriausiu rezultatu pasiekiami kultūras maitinant „CHANG Medium D” terpėje, likus dienai iki kultūrų ėmimo.

„CHANG Medium D” terpės naudojimas auginant perkeltas amniono skysčio ląsteles:

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

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

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

„CHANG Medium D” terpės sudėtyje yra antibiotiko gentamicino sulfato. Būtiny imtis tinkamų atsargumo priemonių užtikrinant, kad pacientė nėra alergiška šiam antibiotikui.

LAIKYMAS IR STABILUMAS

Laikykite „CHANG Medium D” terpę užšaldytą –10 °C temperatūroje. Nenaudota „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.

TÜRKÇE

KULLANIM ENDİKASYONU

Gentamisinli CHANG Medium D şu uygulamalar için kullanılabilir:

- amniyotik sıvı hücrelerinin primer kültürü
- pasaj yapılmış amniyotik sıvı hücrelerini üretme
- kemik iliği hücrelerinin kültürü
- koryonik villus örneklemesinden solid amniyotik doku.

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

Son pH 6,8 - 7,2 olmalıdır.

CİHAZ 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 de in situ metodolojileri için optimize edilmiştir. CHANG Medium D Gentamisin Sülfat antibiyotikini (50 µg/mL) içerir

BİLEŞENLER			
Amino Asitler	Progesteron	Vitaminler ve eser elementler	
Alanin	Testosteron	Askorik asit	
Arginin	Beta estradiol	Folik asit	
Asparajin	Hidrokortizon	Nikotinamid	
Aspartik Asit		Riboflavin	
Sistein	Diğer	Tiamin	
Glutamik Asit	Biyotin	Pantotenik asit	
Glutamin	Etil alkol	Kobalamin	
Glisin	Tirozin	Piridoksin	
Histidin			
İzoloşin	Antioksidan		
Lösin	Tiyotik asit	Tuzlar ve iyonlar	
Lizin		Sodyum klorür	
Metionin	Nükleik asitler	Sodyum selenit	
Fenilalanin	Deoksadenozin	Kalsiyum klorür	
Prolin	Deoksitiidinin	Kolin klorür	
Serin	Deoksiguanozin	Potasuyum klorür	
Treonin	Adenozin	Magnezyum sülfat	
Triptofan	Sitidin	Sodyum fosfat	
Tirozin	Guanozin		
Valin	Tampon		
	Üridin	Sodyum bikarbonat	
Proteinler,			
Hormonlar ve	Enerji Substratları		
Büyüme Faktörleri	Glukoz	Antibiyotik	
Fetal siğir serumu	Piruvat	Gentamisin Sülfat	
	Inositol		
Siğir dana serumu	Su		
Fibroblast büyüme faktörü (FGF)	pH Göstergesi	Enjeksiyonluk	
İnsülin	Fenol kırmızısı	Su Kalitesi	

KALİTE GÜVENCE

STERİLİTE

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

KULLANIM HAZIRLIĞI

- CHANG Medium D ürünündü 37°C su banyosunda işiyei çevirerek hızla çözün.
- CHANG Medium D Gentamisin Sülfat antibiyotikini (50 µg/mL) içerir. İstenirse ek antibiyotikler eklenebilir.

CHANG MEDIUM D ALIKOTLAMAMA

CHANG Medium D ürünündü talimata göre çözün.

Uygun büyüklükte alikotlara aseptik olarak dağıtın ve tekrar dondurun.

- Alikotları kullanmaya hazır olduğunuzda 37°C su banyosunda çözün.

KULLANMA TALİMATI

Primer Kültürler için CHANG Medium D Kullanımı: *in situ* Metodolojiler

- Hücreleri konsantre etmek için amniyotik sıvıyı düşük hızda santrifüleyin.
- Hücre pelletini hastanın kendi amniyotik sıvısının küçük bir miktarında tekrar süspansiyon haline getirin. Örneğin santrifüjenmiş 10 mL amniyotik sıvının süpernatantını 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 kılacak üzere yeterli CHANG Medium D ekleyin.

- Kültürleri ellemeden 37°C %5 - %8 CO₂ atmosferi altında inkübe edin.
- Kültürleri gün 2'de 2 mL CHANG Medium D ekleyerek tamamen sıvıyla örtün.
- Kültürlerin 4 - 5 günden sonra üreme açısından kontrol edilmesi gerekir. Kültürler üreme gözlemlendikten sonra beslenmelidir. Kültürleri tüm kültür süpernatantını alıp yerine 2 mL yeni CHANG Medium D koyarak besleyin. Bundan sonra kültürlerin 2 günde bir beslenmesi önerilir.
- Kültürleri 5. günde veya sonrasında üreme için kontrol edin ve yeterli koloni gözlenince toplayın.
- En iyi sonuçlar kültürlerin toplama öncesi günde CHANG Medium D ile beslenmesiyle alınır.

Primer Kültürler için CHANG Medium D Kullanımı: *Flask Metodolojileri*

- Hücreleri konsantre etmek için amniyotik sıvıyı düşük hızda santrifüleyin.
- Hücre pelletini hastanın kendi amniyotik sıvısının küçük bir miktarında tekrar süspansiyon haline getirin. Örneğin santrifüjenmiş 10 mL amniyotik sıvının süpernatantını 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.
- Kültürleri ellemeden 37°C %5 - %8 CO₂ atmosferi altında inkübe edin.
- Gün 5'te üreme için kontrol edin. Vasatı yeni CHANG Medium D ile değiştirin ve yeterli hücre gelişimi gözlenirse toplayın.
- Kültürlerin üreme durumunu kontrol edin ve bundan sonra yeterli koloni gözlenene ve toplamaya hazır olana kadar her gün vasatı tamamen değiştirin.
- 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.

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

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

CHANG Medium D Gentamisin Sülfat antibiyotikini içerir. Hastanın bu antibiyotiğe karşı hassas olmadığından emin olmak için gerekli önlemler alınmalıdır.

SAKLAMA VE STABİLİTE

CHANG Medium D ürünündü -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 işiye etiketine bakınız. Chang Medium D, kullanım öncesinde işiye bozulmaksızın en fazla 2 kez yeniden dondurulabilir ve çözülmesi olarak 2°C ile 8°C arasında 14 gün boyunca saklanabilir. 14 günden fazla saklama önerilmez.

ÖNLEMLER VE UYARILAR

Bu cihazın, cihaz kullanılmıyın amaçlanmı olduğu belirtilen uygulamanın dahil olduğu işlemler konusunda eğitimli personelce kullanılması amaçlanmıştır.

Steril ambalajın olumsuz etkilendiği herhangi bir işiye kullanmayın.

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

SLOVENČINA

INDIKÁCIA NA POUŽITIE

CHANG Medium D s gentamicinom možno použiť na nasledujúce aplikácie:

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

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

Výsledné pH musí byť 6,8 – 7,2.

POPIS ZARIADENIA

CHANG Medium D bolo vyvinuté na primárnu kultiváciu buniek plodovej vody na použitie pri karyotypovaní a iných prenatálnych genetických testoch. Toto receptúra bola optimalizovaná pre metódky fliašek aj in situ. CHANG Medium D obsahuje antibiotikum gentamicinsulfát (50 µg/ml).

ZLOŽKY			
Aminokyseliny	Insulín	Vitamíny	
alanin	progesterón	a stopové prvky	
arginin	testosterón	kyselina	
asparagín	beta estradiol	askorbová	
kyselina asparagová	hydrokortizón	kyselina listová	
cystein		nikotinamid	
kyselina biotin		riboflavín	
glutámová	inó	tiamín	
glutamin	etylalkohol	kyselina pantoténová	
glycín	tyrozin	kobalamin	
histidín	Antioxidant	pyridoxín	
izoleucín	kyselina tioktová		
leucín		Soli a ióny	
lyzín	Nukleové kyseliny	chlorid sodný	
metionín	selenitiadenozin	selenitiadenozin	
fenylalanín	deoxytycidín	chlorid vápenatý	
prolín	deoxyguanozín	cholin vápenatý	
serín	adenozín	chlorid draselný	
treonín	cytidín	síran horečnatý	
tryptofán	guanozín	fosfát sodný	
tyrozín	tymidín		
valín	uridín	Puifer	
		hydrogenuhličitan sodný	
Bielkoviny,			
hormony a	Energetické		
rastové faktory	substráty		
fetálne bovinné	glukóza	Antibiotikum	
sérum (FBS)	pyruvát	gentamicinsulfát	
bovinné telacie	inositol		
sérum		Voda	
fibroblastový	Indikátor pH	kvalita vody na	
rastový faktor	fenolová červená	injekciu	
(FGF)			

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 mykoplasmu. CHANG Medium D je sterilizované filtráciou cez 0,1-mikronový filter. Vzorky CHANG Medium D sú testované na možnú bakteriologickú kontamináciu podľa protokolu na testovanie sterilizácie popísaného v aktuálnom teste sterility USP<71>.

PRÍPRAVA NA POUŽITIE

- CHANG Medium D rýchlo rozmrazte virením fľaše vo vodnom kúpeli pri teplote 37 °C.
- CHANG Medium D obsahuje antibiotikum gentamicinsulfát (50 µg/ml). Ak chcete, možno pridať ďalšie 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

Použitie CHANG Medium D na primárne kultúry: *Metodiky 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 fliaštičku.

- Nerušenie 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 priživíť, keď sa spozoruje rast. Kultúry priživte odstránením všetkého supernatantu kultúry a pridaním 2 ml čerstvého CHANG Medium D. Potom sa odporúča kultúry priživíť každé 2 dni.
- Rast na kultúrach skontrolujte okolo 5. dňa a vykonajte zber, keď spozorujete dostatočné kolónie.
- Najlepšie výsledky sa dosiahnu, keď sú kultúry priživéne CHANG Medium D deň pred zberom.

Použitie CHANG Medium D na primárne kultúry: *Metodiky fliaštičiek*

- 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. Príďte 4 ml CHANG Medium D na konečný objem 5 ml na fliaštičku.
- Nerušenie 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 priživéne CHANG Medium D deň pred zberom.

Použitie CHANG Medium D na rast pasážovaných buniek plodovej vody:

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

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

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

CHANG Medium D obsahuje antibiotikum gentamicinsulfát. Musia sa vykonať primerané bezpečnostné opatrenia aby sa zaistilo, že pacient nie je senzibilizovaný na toto antibiotikum.

UCHOVÁVANIE A STABILITA

CHANG Medium D uchovávať 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 zmrazené pri teplote 2 °C až 8 °C 14 dní bez vyplvnenia jeho funkcie. Uchovávanie dlhšie než 14 dní sa neodporúča.

BEZPEČNOSTNÉ OPATRENIA

A VAROVANIE

Toto zariadenie je určené na použitie personálom vyškolenej 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.

БЪЛГАРСКИ

ПОКАЗАНИЯ ЗА УПОТРЕБА

CHANG Medium D с гентамицин може да се използва за следните приложения:

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

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

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

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. CHANG Medium D съдържа антибиотик гентамицин сулфат (50 µg/ml)

КОМПОНЕНТИ

Аминокиселини	Прогестерон	Витамини
Аланин	Тестостерон	и микроелементи
Аргинин	Бета естрадиол	Аскорбинова киселина
Аспарагин	Хидрокортизон	Фолева киселина
Аспарагинова киселина		Други
Цистеин	Биотин	Никотинамид
Глутаминова киселина	Етилов алкохол	Рибофлавин
Глутамин	Тиронин	Тиамин
Глицин		Пантотенова киселина
Хистидин		Кобаламин
Изолевцин		Пиридоксин
Левцин		
Лизин	Нуклеинови, киселини	Соли и йони
Метионин	Дезоксиадеозин	Натриев хлорид
Фенилаланин	Дезоксицитидин	Натриев селенит
Пролин	Дезоксигуанозин	Калциев хлорид
Серин	Аденозин	Холин хлорид
Треонин	Цитидин	Калиев хлорид
Триптофан	Гуанозин	Магnezиев сулфат
Тирозин	Тимидин	Натриев фосфат
Валин	Уридин	

Протеини, хормони, и растежни фактори	Енергийни субстрати	Буфер
Фетален говежди серум (FBS)	Глюкоза	Натриев бикарбонат
Говежди серум от теле	Пируват	Антибиотик
Фибробластен растежен фактор (FGF)	Инозитол	Гентамицин сулфат
Инсулин		

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 микоплазма. CHANG Medium D е стерилизирана чрез филтрация през филтър от 0,1 микрона. 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 разклащате с кръгови движения бутилката във водна баня с температура 37° C.
- CHANG Medium D съдържа антибиотик гентамицин сулфат (50 µg/ml) По желание могат да бъдат добавени допълнителни 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° C, когато е необходимо да се използват.

УКАЗАНИЯ ЗА УПОТРЕБА

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.
- Инкубирате културите в покой при 37° C, 5% – 8% CO₂ 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.
- Инкубирате културите в покой при 37° C, 5% – 8% CO₂ 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.

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

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

CHANG Medium D съдържа антибиотик гентамицин сулфат. Трябва да се предприемат необходимите предпазни мерки, за да се гарантира, че пациентът не е сенситилизиран към този антибиотик.

СЪХРАНЕНИЕ И СТАБИЛНОСТ

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

Пазете от флуоресцентна светлина.

Вижте етиката на бутилката за конкретния срок на годност. CHANG Medium D може да бъде замразена отново максимум 2 пъти и съхранявана размразена при 2° C до 8° C 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.

HRVATSKI

INDIKACIJE ZA UPOTREBU

CHANG Medium D s gentamicinom može 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).

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

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*. CHANG Medium D sadrži antibiotik gentamicinsulfat (50 µg/ml).

КОМПОНЕНТЕ

Aminokiseline	Тестостерон	Витамини i елементи u траговима
Alanin	Beta estradiol	Аскорбинска киселина
Arginin	Хидрокортизон	Фолна киселина
Asparagin		Никотинамид
Aspartatna kiselina	Остало	Рибофлавин
Cistein	Бiotin	Tijamin
Glutamatra kiselina	Еtilni alkohol	Pantotenska kiselina
Glutamin	Tironin	Kobalamin
Glicin		Риридоксин
Histidin		
Izoleucin		
Leucin		
Lizin		
Metionin		
Fenilalanin		
Prolin		
Serin		
Treonin		
Triptofan		
Tirozin		
Valin		

Proteini, hormoni, i čimbenici rasta	Енергетски супстрати
Fetalni говеђи серум (FBS)	Глукоза
Serum teladi	Пируват
Fibroblastni čimbenik rasta (FGF)	Инозитол

pH индикатор	Вода
Fenol crveno	Квалитета у складу с propisанom за воду за инјекције

OSIGURANJE KVALITETE STERILNOST

Serum koji se koristi за производњу производа CHANG Medium D testiran je на контаминацију вирусима у складу са Zakоником saveznih propisa SAD-a (CFR), Glava 9., dio 113.53. Uz то, testiran је и на микоплазме. CHANG Medium D steriliziran је филтрацијом кроз филтар од 0,1 микрон. Uzorci производа CHANG Medium D testirani су на могућу бактериолошку контаминацију након provedbe protokola testiranja sterilnosti који је описан у важећем тесту sterilnosti у складу с Farmakopejom Sjedinjenih Američkih Država, USP <71>.

PRIPREMA ZA UPOTREBU

- Brzo odmrznuti proizvod CHANG Medium D муќкајући боциу у воденој купелји temperiranoј на 37 °C.
- CHANG Medium D sadrži antibiotik gentamicinsulfat (50 µg/ml). Po želji се могу dodati dodatni antibiotici.

ALIKVOTIRANJE PROIZVODA CHANG MEDIUM D

- Odmrznuti proizvod CHANG Medium D у складу с uputama.
- Aseптички raspodijeliti у аликvote odgovарајућих величина i ponovno zamrznuti.
- Odmrznuti аликvote у воденој купелји temperiranoј на 37 °C kada их želite upotrijebiti.

UPUTE ZA UPOTREBU

Upotreba proizvoda CHANG Medium D за primarne kulture: metode *in situ*

- Centrifugirati amnijsku tekućinu pri maloj brzini kako bi се stanice koncentrirale.
- Obnoviti suspenziju taloga stanica u malom volumenu pacijentićine vlastite amnijske tekućine. Na primjer, aspirirati supernatant 10 ml centrifugirane amnijske tekućine до razine од 0,5 ml iznad taloga stanica i obnoviti suspenziju. Dodati odgovарајућу količinu proizvoda CHANG Medium D koncentriranoј suspenziji stanica kako bi се postigao konačan volumen nasаđivanja од 0,5 ml po pokrovnom stakalcu (ukupno 4 pokrovna stakalca) ili од 2 ml po бојчи за инкубу.
- Neometano inkubirati kulture pri 37 °C u atmosferi s 5 % – 8 % CO₂.
- Drugi дан natopiti kulture dodavanjem 2 ml proizvoda CHANG Medium D.
- Nakon 4 до 5 дана provjeriti rast kultura. Hraniti kulture nakon što се zabilježi rast. За hranjenje kultura ukloniti sav supernatant kulture i zamijeniti га s 2 ml svježег proizvoda CHANG Medium D. Препоручује се да се након toga kulture hrane svaka 2 дана.
- Peti дан илi након петог дана provjeriti rast kultura i prikupiti ih kada bude zabilježena dovoljna količina kolonija.
- Najbolji rezultati postižu се kada се kulture hrane proizvodom CHANG Medium D дан prije prikupljanja.

Upotreba proizvoda CHANG Medium D за primarne kulture: metode u tikvici

- Centrifugirati amnijsku tekućinu pri maloj brzini kako bi се stanice koncentrirale.
- Obnoviti suspenziju taloga stanica u malom volumenu pacijentićine vlastite amnijske tekućine. Na primjer, aspirirati supernatant 10 ml centrifugirane amnijske tekućine до razine од 1 ml iznad taloga stanica i obnoviti suspenziju. Dodati 4 ml proizvoda CHANG Medium D kako bi се postigao ukupan volumen од 5 ml po tikvici.
- Neometano inkubirati kulture pri 37 °C u atmosferi s 5 % – 8 % CO₂.
- Peti дан provjeriti rast kultura. Zamijeniti medij svježim proizvodom CHANG Medium D i prikupiti kulture ako је zabilježen dovoljan rast stanica.
- Nakon toga svaki дан provjeravati rast kultura i u potpunosti mijenjati medij dok ne bude zabilježena dovoljna količina kolonija spremnih за prikupljanje.
- Najbolji rezultati postižu се kada се kulture hrane proizvodom CHANG Medium D дан prije prikupljanja.

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

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

pH vrijednost medija koji се koristi за hranjenje kultura mora biti između 6,8 i 7,2 (tj. medij mora biti žućkastoruzičaste boje). pH се može jednostavno prilagoditi postavljanjem medija u inkubator s 5% – 8% CO₂ u posudi s lagano odvmutim poklopcem на otprilike 30 minuta.

Napomena: uobičajeno је да се u proizvodu CHANG Medium D formiraju kristali kalcijeva oksalata. Nije zabilježeno да prisutnost tih kristala ima ikakvo štetno djelovanje на performanse proizvoda.

CHANG Medium D sadrži antibiotik gentamicinsulfat. Potrebno је poduzeti odgovарајуће mjere opreza kako bi се osiguralo да pacijent nije osjetljiv на ovaj antibiotik.

POHRANA I STABILNOST

Proizvod CHANG Medium D pohranjivati u zamrznutom stanju на -10 °C. Neupotrijebljeni proizvod CHANG Medium D može се ponovno zamrznuti илi pohraniti на 2 °C – 8 °C.

Zaštitiiti од fluorescentnog svjetla.

Rok valjanosti potražите на oznaci на bocі. Proizvod CHANG Medium D smije се ponovno zamrzavati najviše 2 puta i pohranjivati u odmrznutom stanju на 2 °C – 8 °C 14 дана i то neće utjecati на funkcionalnost proizvoda. Ne preporučuje се pohranjivati га duže од 14 дана.

MJERE OPREZA I UPOZORENJA

Предвидено је да се овим производом користи особље оспособљено за поступке који укључују примјену за коју је намјенjen ovaj proizvod.

Не употребљавати bocу на којој је стерилно пакирање оштећено.

Не употребљавати производ CHANG Medium D након истека рока valjanosti наведеног на oznaci.

MALTI

INDIKAZZJONI GHAL-UŻU

- CHANG Medium D with Gentamicin jista' jiġi użat għall-applikazzjonijiet li ġejjin:
1. il-kultura primarja ta' ċelloli tal-fluwidu amnjotiku
 2. it-tkabbir ta' ċelloli sottokultivati tal-fluwidu amnjotiku
 3. il-kultura ta' ċelloli tal-modullun
 4. tessut amnjotiku solidu minn kampjuni ta' villi korjonici.

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

Il-pH finali trid tkun bejn 6.8-7.2.

DESKRIZZJONI TAL-APPARAT

CHANG Medium D ġie żviluppat għall-kultura primarja ta' ċelloli tal-fluwidu amnjotiku u man 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. CHANG Medium D fih l-antibijotiku Gentamicin Sulfate (50 µg/mL).

KOMPONENTI

<u>Aċidi Amminici</u>	Progesterone	<u>Vitami</u>
Alanine	Testosterone	<u>u mikroelemen</u>
Arginine	Beta estradiol	Ascorbic acid
Asparagine	Hydrocortisone	Folic acid
Aspartic Acid		Nicotinamide
Cysteine	<u>Oħrajn</u>	Riboflavin
Glutamic Acid	Biotin	Thiamine
Glutamine	Ethyl alcohol	Pantothenic acid
Glycine	Thyronine	Cobalamin
Histidine		Pyridoxine
Isoleucine	<u>Antiossidant</u>	
Leucine	Thioctic acid	
Lysine		<u>Imluha u Joni</u>
Methionine	<u>Aċidi nukleiċi</u>	Sodium selenite
Phenylalanine	Deoxyadenosine	Calcium chloride
Proline	Deoxycytidine	Choline chloride
Serine	Deoxyguanosine	Potassium
Threonine	Adenosine	chloride
Tryptophan	Cytidine	Magnesium sulfate
Tyrosine	Guanosine	Sodium phosphate
Valine	Uridine	
		<u>Bafer</u>
<u>Proteini, Ormoni</u>		Sodium
<u>u Fatturi ta' Tkabir</u>	<u>Substrati</u>	bicarbonate
Fetal bovine serum (FBS)	<u>tal-Enerġija</u>	
Bovine calf serum	<u>Glucose</u>	<u>Antibijotiku</u>
Fattur ta' tkabbir tal-fibroblast (FGF)	<u>Pyruvate</u>	Gentamicin Sulfate
Insulina	<u>Indikator tal-pH</u>	
	Phenol Red	<u>Ilma</u>
		Kwalità tal-WFI (Ilma għall-Injezzjonijiet)

ASSIGURAZZJONI TAL-KWALITÀ

STERILITÀ
Serum użat fil-produzzjoni ta' CHANG Medium D ġie testjat għall-kontaminazzjoni mill-virusus skont CFR Titolu 9 Taqsima 113.53. Għie skrinjat ukoll għall-mikoplazma. CHANG Medium D jiġi sterilizzat permezz ta' filtrazzjoni minn għo filtru ta' 0.1 mikron. Kampjuni ta' CHANG Medium D jiġu testjati għall-possibbiltà ta' kontaminazzjoni batterjoloġika skont il-protokoll ta' ttestjar għall-istertilità deskritt fit-test attwali tal-USP għall-Istertilità <71>.

PREPARAZZJONI GĦALL-UŻU

1. Holi CHANG Medium D malajr billi ddawwar il-flixkun f'banjumarija f'temperatura ta' 37°C.
2. CHANG Medium D fih l-antibijotiku Gentamicin Sulfate (50 µg/mL). Jistgħu jgħidju antibiotiċi addizzjonali jekk ikun mixtieġ.

L-UŻU TA' ALIKWOTI TA' CHANG MEDIUM D

1. Holi iċ-CHANG Medium D skont l-istruzzjonijiet.
2. Qassam b'mod aseptiku f'alikwoti ta' daqs konvenjenti u erga' friża.
3. Holi l-alikwoti f'banjumarija f'temperatura ta' 37°C meta jkunu se jintużaw.

ISTRUZZJONIJET DWAR L-UŻU

L-ustruż tal-CHANG Medium D għal Kulturi Primarji: Metodoloġiji in situ

1. Iċċentrifuga l-fluwidu amnjotiku f'veloċità baxxa biex tikkonċentra ċ-ċelloli.
2. Erga' s'sospendi l-gerbuba taċ-ċelloli f'volum żgħir tal-fluwidu amnjotiku tal-pazjent stess. Pereżempju, aspira s-supernate ta' 10 mL tal-fluwidu amnjotiku ċċentrifugat sa 0.5 mL l'fuq mill-gerbuba taċ-ċelloli u erga' s'sospendi. Żid ammont suffiċjenti ta' CHANG

- Medium D lis-sospensjoni taċ-ċelloli kkonċentrati sabiex ikun hemm volum ta' plakatura finali ta' 0.5 mL għal kul coverslip (total ta' 4 coverslips) jew 2 mL għal kul flasketta.
3. Inkuba l-kulturi mingħajr qaċliq f'temperatura ta' 37°C f'atmosfera ta' 5%-8% CO₂.
 4. Għarraġ il-kulturi fit-tieni (2) jum billi żżid 2 mL ta' CHANG Medium D.
 5. Wara 4 jew 5 ijiem, għandu jiġi ċċekkjat kemm kibru l-kulturi. Il-kulturi għandhom jiġu misqija mali jiġi osservat li b'dew jikun. Isqi l-kulturi billi tneħhi s-supernatant kollu tal-kultura u tbiċċid b'2 mL ta' CHANG Medium D frisk. Huwa rrakkomandat li mbagħad il-kulturi jiġu misqijin kull jumejn.
 6. Iċċekkja kemm kibru l-kulturi fil-jew wara l-5 jum meta jiġi osservat numru suffiċjenti ta' kolonji.
 7. Jinkisbu l-aħjar riżultati meta l-kulturi jiġu misqijin b'CHANG Medium D fil-jum ta' qabel il-hsad.

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

1. Iċċentrifuga l-fluwidu amnjotiku f'veloċità baxxa biex tikkonċentra ċ-ċelloli.
2. Erga' s'sospendi l-gerbuba taċ-ċelloli f'volum żgħir tal-fluwidu amnjotiku tal-pazjent stess. Pereżempju, aspira s-supernate ta' 10 mL tal-fluwidu amnjotiku 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 kul flask.
3. Inkuba l-kulturi mingħajr qaċliq f'temperatura ta' 37°C f'atmosfera ta' 5%-8% CO₂.
4. Fil-5 jum iċċekkja kemm kibru. Biddel il-medium b'CHANG Medium D frisk u aħsad jekk jiġi osservat tkabbir suffiċjenti taċ-ċelloli.
5. Iċċekkja kemm kibru l-kulturi u mbagħad biddel il-medium kompletament kuljum sakemm jiġi osservat numru suffiċjenti ta' kolonji u jkunu lesti għall-hsad.
6. Jinkisbu l-aħjar riżultati meta l-kulturi jiġu misqijin b'CHANG Medium D fil-jum ta' qabel il-hsad.

L-użu ta' CHANG Medium D għat-Tkabbir ta' Ċelloli Sottokultivati tal-Fluwidu Amnjotiku: Għas-sottokultivazzjoni taċ-ċelloli, ittratta l-kulturi bit-trypsin (jew pronase, eċċ) bħalma jsir normalment meta ċ-ċelloli jtkabbru f'medium konvenzjonali. Madankollu, it-trattament bil-protease għandu jiġi mmonitorjat bir-regola. Ċelloli tal-fluwidu amnjotiku mkabbra f'CHANG Medium D għandhom tendenza li jkunu iktar sensittivi għat-trattament bil-protease minn ċelloli tal-fluwidu amnjotiku mkabbra f'medium konvenzjonali. Jista' jkun meħtieġ il-protokoll tiegħek jiġi mmodifikat sabiex jittiehed akkont ta' dan.

Il-pH tal-medium użat biex jitra' l'illikulturi jrid ikun bejn 6.8–7.2 (jiġifieri l-medium jrid ikun ta' kultur ftit safra-ni-fis-salun). Il-pH jista' jiġi aġġustat b'mod hafif billi tpoġġi l-medium għo inkubatur ta' 5%–8% CO₂ bit-tapp mahful fit għal madwar 30 minuta.

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

CHANG Medium D fih l-antibijotiku Gentamicin Sulfate. Għandhom jittieħdu l-prekawzjonijiet xierqa sabiex jiġi żgurat li l-pazjent mhuxievs sensitizzat għal dan l-antibijotiku.

HAŻNA U STABILITÀ

Aħzen CHANG Medium D ifriżat f'temperatura ta' -10°C. CHANG Medium D ma ntużax jista' jerga' jiġi friżat jew mahżun f'temperatura ta' 2°C sa 8°C.

Ipproteġi minn dawl fluorexxenti.

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

PREKAWZJONIJET U TWISSIJET

Dan l-apparat huwa mahsub għall-użu minn personal imħarġ f'proċeduri li jinkludu l-applikazzjoni indikata li għaliha huwa mahsub l-apparat.

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

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

SLOVENŠČINA

INDIKACIJE ZA UPORABO

- Medij CHANG Medium D z gentamicinom se lahko uporablja za naslednje aplikacije:
1. primarna kultura celic amnijske tekočine,
 2. gojene pasażirane 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).

Končni pH mora biti 6,8–7,2.

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. CHANG Medium D vsebuje antibiotik gentamicinjev sulfat (50 µg/ml).

KOMPONENTE

<u>Aminokisline</u>	Progesteron	<u>Vitami</u>
Alanin	Testosteron	<u>u slednjih</u>
Arginin	Beta-estradiol	Askorbinska kislina
Asparagin	Hidrokortizon	Folna kislina
Asparaginska kislina		Nikotinamid
Cistein	<u>Druga</u>	Riboflavin
Glutaminska kislina	Biotin	Tiamin
Glutamin	Etilni alkohol	Pantotenska kislina
Glicin	Tironin	Kobalamin
Histidin		Pinoksin
Izoleucin	<u>Antio</u>	
Levcin	ksidant	
Lizin	Tioktina kislina	
Metionin		<u>Soli in joni</u>
Fenilalanin	<u>Nukleinske kisline</u>	Natrijev klorid
Prolin	Deoksiadenosin	Natrijev selenit
Serin	Deoksicitidin	Kalcijev klorid
Treonin	Deoksigvanozin	Holniklorid
Triptofan	Adenosin	Kalcijev klorid
Tirozin	Citidin	Magnezijev sulfat
Valin	Gvanozin	Natrijev fosfat
	Timidin	
	Uridin	<u>Pufer</u>
<u>Beljakovine,</u>		Natrijev
<u>hormoni in rastni</u>	<u>Energijski</u>	bikarbonat
<u>faktorji</u>	<u>Substrati</u>	
Serum govejega zarodka (FBS)	<u>Glukoza</u>	<u>Antibiotik</u>
Telečji serum	Piruvat	Gentamicinjev sulfat
Fibroblastni rastni faktor (FGF)	Inozitol	
Insulin	<u>Indikator</u>	<u>Voda</u>
	<u>rednosti pH</u>	Kakovost,
	Fenol rdeče	ki ustreza
		vodi za injekcije

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 filtrirajočo skozi 0,1-mikronski filter. Vzorci medija CHANG Medium D so testirani za morebitno bakteriološko kontaminacijo po protokolu za testiranje sterilitnosti, opisanem v trenutni USP za testiranje sterilitnosti <71>.

PRIPRAVA ZA UPORABO

1. Hitro odtalite medij CHANG Medium D tako, da sukatte steklenico v vodni kopeli s temperaturo 37 °C.
2. CHANG Medium D vsebuje antibiotik gentamicinjev sulfat (50 µg/ml). Po želji lahko dodate še več antibiotikov.

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

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 vse 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 pasażirane celice amnijske tekočine: Če želite pasażirati 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.

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 lahko prilagodite tako, da medij za 30 minut postavite v inkubator s 5–8% CO₂ (pokrovček naj bo nekoliko priprt).

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

CHANG Medium D vsebuje antibiotik gentamicinjev sulfat. Izvesti je treba ustrezne previdnostne ukrepe za zagotavljanje, da bolnik ni občutljiv za ta antibiotik.

SHRANJEVANJE IN STABILNOST

Medij CHANG Medium D shranjujete 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 oddaljenega 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 OPOZORIILA

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

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

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