



**SZABO
SCANDIC**

Part of Europa Biosite

Produktinformation



Forschungsprodukte & Biochemikalien



Zellkultur & Verbrauchsmaterial



Diagnostik & molekulare Diagnostik



Laborgeräte & Service

Weitere Information auf den folgenden Seiten!
See the following pages for more information!



Lieferung & Zahlungsart

siehe unsere [Liefer- und Versandbedingungen](#)

Zuschläge

- Mindermengenzuschlag
- Trockeneiszuschlag
- Gefahrgutzuschlag
- Expressversand

SZABO-SCANDIC HandelsgmbH

Quellenstraße 110, A-1100 Wien

T. +43(0)1 489 3961-0

F. +43(0)1 489 3961-7

mail@szabo-scandic.com

www.szabo-scandic.com

linkedin.com/company/szaboscandic



CHANG Medium C

For Human Amniotic Fluid Cells

Catalog No.**T101-019 kit includes (C100 & C107)****T101-059 kit includes (C101 & C109),****C100 (CHANG Medium Basal)****+C106 (CHANG Medium C Frozen Supplement-14mL),****C101 (CHANG Medium Basal)****+C108 (CHANG Medium C Frozen Supplement-70mL)**For *in vitro* diagnostic use.Zur *In-vitro*-Diagnostik.Solo per uso diagnostico *in vitro*.Para uso diagnóstico *in vitro*.Pour diagnostics *in vitro*.Para utilização em diagnóstico *in vitro*.Για *in vitro* διαγνωστική χρήση.Pro diagnostické použití *in vitro*.Til *in vitro*-diagnostik.*In vitro* -diagnostikaan.Lietošanai *in vitro* diagnostikā.Uitsluitend voor *in vitro* diagnostisch gebruik.Do diagnostyki *in vitro*.Pentru uz diagnostic *in vitro*.Für *in vitro*-diagnostik.*In vitro* diagnostiseks kasutamiseks.*In vitro* diagnostikai alkalmazáshoz.Skirta *in vitro* diagnostikai.*In vitro* diagnostik kullanım için.Na diagnostické použitie *in vitro*.За *in vitro* диагностична употреба.Za upotrebu u *in vitro* dijagnostici.Ghal už dijanostiku *in vitro*.Za diagnostično uporabo *in vitro*.

Glossary of Symbols*:	
REF	Catalog Number
LOT	Lot Number
STERILE A	Sterilized using aseptic processing techniques (filtration)
	Expiration: Year - Month - Day
	Caution, consult accompanying documents
	Consult instructions for use
	Storage Temperature 2-8°C for T101-019, T101-059, C100, and C101
	Storage Temperature -10°C for C106 and C108
	Do Not Re-Sterilize
	Do not use if package is damaged
	Manufacturer
	CE Mark
EC REP	Emergo Europe - Prinsesegracht 20 2514 AP The Hague The Netherlands

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

ENGLISH**INDICATION FOR USE**

CHANG Medium C may be used for the following applications:

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

THIS MEDIUM HAS BEEN DESIGNED FOR USE IN BOTH OPEN (CULTURES EQUILIBRATED WITH A 5% CO₂ ATMOSPHERE) AND CLOSED CULTURE SYSTEMS (CULTURES FLOODED WITH 5% CO₂ AND INCUBATED WITH THE CULTURE VESSELS TIGHTLY CAPPED).**DEVICE DESCRIPTION**

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

COMPONENTS

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

QUALITY ASSURANCE**STERILITY**

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

PREPARATION FOR USE**Lyophilized Supplement**

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

bottle of CHANG Medium B Basal.

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

REQUOTING CHANG MEDIUM C SUPPLEMENT**Lyophilized Supplement**

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

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

Frozen Supplement

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

DIRECTIONS FOR USETHE pH OF THE MEDIUM USED TO FEED THE CULTURES MUST BE BETWEEN 6.8 - 7.2 (i.e. the medium must be slightly yellowish-salmon color). pH can easily be adjusted by placing the medium in a 5% - 8% CO₂ incubator with the cap slightly loosened. The final pH must be 6.8 - 7.2.

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

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

1. Centrifuge amniotic fluid at low speed to concentrate the cells.
2. Resuspend the cell pellet in a small volume of the patient's own amniotic fluid. For example, aspirate the supernate of 10 mL of spun amniotic fluid to 1 mL above the cell pellet and resuspend. Add 4 mL of CHANG Medium C for a total volume of 5 mL per flask.
3. Incubate cultures undisturbed at 37°C 5% CO₂ atmosphere.
4. Check for growth on day 5. Change medium with fresh CHANG Medium C and harvest if sufficient cell growth is observed.
5. Check cultures for growth and completely change medium every other day thereafter until sufficient colonies are observed and are ready to harvest.
6. Best results are obtained when the cultures are fed with CHANG Medium C the day before the harvest.

Use of CHANG Medium C for Primary Cultures: Flask Methodologies

1. Centrifuge amniotic fluid at low speed to concentrate the cells.
 2. Resuspend the cell pellet in a small volume of the patient's own amniotic fluid. For example, aspirate the supernate of 10 mL of spun amniotic fluid to 1 mL above the cell pellet and resuspend. Add 4 mL of CHANG Medium C for a total volume of 5 mL per flask.
 3. Incubate cultures undisturbed at 37°C 5% CO₂ atmosphere.
 4. Check for growth on day 5. Change medium with fresh CHANG Medium C and harvest if sufficient cell growth is observed.
 5. Check cultures for growth and completely change medium every other day thereafter until sufficient colonies are observed and are ready to harvest.
 6. Best results are obtained when the cultures are fed with CHANG Medium C the day before the harvest.
- NOTE: For closed systems, flush each culture flask with 5% CO₂ - 95% air for 20 seconds. Tighten the caps to the culture flasks and incubate them at 37°C. (It is recommended that a sterile plugged pasteur pipet be attached to the CO₂ source to ensure sterility of the incoming gas.)

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

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

STORAGE AND STABILITY

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

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

DO NOT FREEZE COMPLETE CHANG MEDIUM C.**PRECAUTIONS AND WARNINGS**

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

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

DEUTSCH

INDIKATIONEN

CHANG Medium C 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 SOWOHL OFFENEN (IN EINER 5%IGEN CO₂-ATMOSPHÄRE ÄQUILIBRIERTE KULTUREN) ALS AUCH GESCHLOSSENEN KULTURSYSTEMEN ENTWICKELT (KULTUREN, DIE MIT 5 % CO₂ ÜBERSCHWEMMT UND BEI FEST MIT EINER KAPPE VERSCHLOSSENEN KULTURGEFÄSSEN INKUBIERT WURDEN).

PRODUKTBESCHREIBUNG

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

INHALTSSTOFFE

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

QUALITÄTSSICHERUNG

STERILITÄT

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

VORBEREITUNG

Lyophilisierte Ergänzung

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

3. Das Fläschchen für eine vollständige Lösung leicht schwenken. (HINWEIS: Das Fläschchen muss ggf. bei 37 °C für 5 bis 10 Minuten inkubiert werden, um die Ergänzung vollständig aufzulösen.)
4. Den gesamten Inhalt des rekonstituierten CHANG Medium C Supplement mit aseptischen Techniken in die Flasche mit CHANG Medium B Basal übertragen.

5. Das gesamte CHANG Medium C durch Schwenken der Flasche gut mischen.
6. 10,0 ml/l (200 mM) L-Glutamin hinzugeben. Bei Bedarf können Antibiotika hinzugefügt werden.

Gefrorene Ergänzung

1. Die gefrorene Ergänzung CHANG Medium C schnell auftauen, das Fläschchen dazu in einem 37 °C warmen Wasserbad schwenken.
2. Den gesamten Inhalt des aufgetauten CHANG Medium C Supplement mit aseptischen Techniken in die Flasche mit CHANG Medium B Basal übertragen.
3. Das gesamte CHANG Medium C durch Schwenken der Flasche gut mischen.
4. 10,0 ml/l (200 mM) L-Glutamin hinzugeben. Bei Bedarf können Antibiotika hinzugefügt werden.

ALIQUOTIEREN DES CHANG MEDIUM C SUPPLEMENT

Lyophilisierte Ergänzung

Wenn nicht das ganze CHANG Medium C innerhalb von 10 Tagen verwendet werden kann, können mithilfe der folgenden Änderung des Verfahrens kleinere Mengen zusammengestellt werden:

1. Die lyophilisierte Ergänzung CHANG Medium C rekonstituieren.
2. Mit aseptischen Techniken in handliche Aliquote verteilen und einfrieren.
3. Außerdem das CHANG Medium B Basal mit aseptischen Techniken in eine entsprechende Anzahl von Aliquoten verteilen.
4. Um ein vollständiges CHANG Medium C vorzubereiten, ein Aliquot des aufgetauten CHANG Medium C Supplement in ein Aliquot des CHANG Medium B Basal geben.
5. Gründlich mischen.

Gefrorene Ergänzung

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

GEBRAUCHSANWEISUNG

DER PH-WERT DES MEDIUMS, DAS ALS NÄHRMEDIUM DER KULTUREN DIENT, MUSS ZWISCHEN 6,8 UND 7,2 LIEGEN (d. h. das Medium muss leicht gelblich-lachsfarben sein). Der pH-Wert kann leicht angepasst werden, indem das Medium in einen 5-8%igen CO₂- Inkubator mit leicht gelöster Kappe gestellt wird.

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

Weitere Einzelheiten zum Gebrauch dieser Produkte sind den Verfahrens und Vorschriften des jeweiligen Labors zu entnehmen, die eigens für das jeweilige medizinische Programm entwickelt und optimiert wurden.

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

3. Die Kulturen ungestört bei 37 °C in einer 5%igen CO₂-Atmosphäre inkubieren.
4. Die Kulturen an Tag 2 überspülen, indem 2 ml CHANG Medium C 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 Kulturrührstand entfernt wird und stattdessen 2 ml frisches CHANG Medium C 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 C genährt werden.

DAS COMPLETE CHANG MEDIUM C NICHT EINFRIEREN.

VORSICHTSMASSNAHMEN UND WARNHINWEISE

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

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

Verwendung von CHANG Medium C für Primärkulturen: Flaschen-Methoden

1. Das Fruchtwasser bei geringer Geschwindigkeit zentrifugieren, um 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 C für ein Gesamtvolumen von 5 ml in die Flasche geben.
3. Die Kulturen ungestört bei 37 °C in einer 5%igen CO₂-Atmosphäre inkubieren.
4. An Tag 5 auf Wachstum prüfen. Das Medium durch frisches CHANG Medium C ersetzen und die Kulturen entnehmen, wenn ausreichend Zellwachstum festgestellt wird.
5. Die Kulturen auf Wachstum prüfen und danach jeden zweiten 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 C genährt werden.

HINWEIS: Bei geschlossenen Systemen jede Kulturflasche mit 5 % CO₂ und 95 % Luft 20 Sekunden lang ausspülen. Die Kulturflaschen mit den Kappen fest verschließen und bei 37 °C inkubieren. (Es wird empfohlen, eine sterile gestopfte Pasteurpipette an die CO₂-Quelle anzubringen, um die Sterilität des eintretenden Gases sicherzustellen.)

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

LAGERUNG UND STABILITÄT

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

Die spezifischen Verfallsdaten auf den Etiketten der jeweiligen Komponentenflaschen beachten. Das Complete CHANG Medium C kann bei 2 °C bis 8 °C 10 Tage lang ohne Verwendung gelagert werden, ohne dass seine Funktion beeinträchtigt wird. Eine Lagerung für mehr als 10 Tage wird nicht empfohlen.

INDICAZIONI PER L'USO

CHANG Medium C 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 coriomici.

QUESTO TERRENO PUÒ ESSERE USATO SIA IN SISTEMI APERTI (CULTURE EQUILIBRATE IN ATMOSFERA CON IL 5% DI CO₂) CHE IN SISTEMI CHIUSI (CULTURE SOTTO FLUSSO CON IL 5% DI CO₂ E INCUBATE IN SUPPORTI CHIUSI ERMETICAMENTE).

DESCRIZIONE DEL DISPOSITIVO

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

COMPONENTI

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

GARANZIA DI QUALITÀ**STERILITÀ**

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

PREPARAZIONE PER L'USO**Supplemento liofilizzato**

1. Portare CHANG Medium C supplemento liofilizzato a temperatura ambiente.
2. Usando tecniche in asepsi, aggiungere 10 ml o 50 ml di acqua distillata sterile al liofilo. Il flacone da 10 ml deve essere impiegato per CHANG Medium B Basal nel formato da 90 ml, mentre quello da 50 ml per CHANG Medium B Basal nel formato da 450 ml.
3. Agitare delicatamente il flacone per rendere omogenea la soluzione. (NOTA: per dissolvere completamente il supplemento, potrebbe essere necessario incubare a 37 °C per 5-10 minuti).

4. Trasferire in condizioni aseetiche l'intero contenuto di CHANG Medium C supplemento ricostituito nel flacone di CHANG Medium B Basal.
5. Miscelare accuratamente CHANG Medium C completo agitando il flacone.
6. Aggiungere L-glutammina, 10,0 ml/l (200 mM). È possibile aggiungere antibiotici, se lo si ritiene necessario.

Supplemento congelato

1. Scongelare rapidamente CHANG Medium C supplemento agitando il flacone in un bagnò d'acqua a 37 °C.
2. Trasferire in condizioni aseetiche l'intero contenuto di CHANG Medium C supplemento scongelato nel flacone di CHANG Medium B Basal.
3. Miscelare accuratamente CHANG Medium C completo agitando il flacone.
4. Aggiungere L-glutammina, 10,0 ml/l (200 mM). È possibile aggiungere antibiotici, se lo si ritiene necessario.

SUDDIVISIONE DI CHANG MEDIUM C**SUPPLEMENT IN ALIQUOTE****Supplemento liofilizzato**

Qualora non fosse possibile utilizzare CHANG Medium C completo entro 10 giorni, è consigliabile ricostituirne quantità inferiori modificando la procedura come segue:

1. Ricostituire CHANG Medium C supplemento liofilizzato.
2. Distribuire in condizioni aseetiche in aliquote appropriate e congelare.
3. Dispensare, sempre in condizioni aseetiche, anche CHANG Medium B Basal in un numero di aliquote corrispondenti.
4. Per preparare CHANG Medium C completo, aggiungere un'aliquota di CHANG Medium C supplemento scongelato a un'aliquota di CHANG Medium B Basal.
5. Miscelare accuratamente.

Supplemento congelato

1. Scongelare CHANG Medium C supplemento.
2. Distribuire in condizioni aseetiche in aliquote di dimensioni appropriate e ricongelare. (NOTA: il flacone di supplemento può contenere 14 ml o 70 ml. Distribuire egualmente.)
3. Dispensare, sempre in condizioni aseetiche, anche CHANG Medium B Basal in un numero di aliquote corrispondenti.
4. Per preparare CHANG Medium C completo, aggiungere un'aliquota di CHANG Medium C supplemento scongelato a un'aliquota di CHANG Medium B Basal.
5. Miscelare accuratamente.

ISTRUZIONI PER L'USO

IL pH DEL TERRENO USATO PER ARRICCHIRE LE COLTURE DEVE ESSERE COMPRESCO 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.

Il pH finale deve essere compreso fra 6,8 e 7,2. Per ulteriori dettagli sull'uso di questi prodotti, il laboratorio deve consultare le procedure e i protocolli specificamente sviluppati e ottimizzati per il proprio programma medico.

Uso di CHANG Medium C per colture primarie Metodologie in situ

1. Centrifugare il liquido amniotico a bassa velocità per concentrare le cellule.
2. Risospingere 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 risospingere. Aggiungere alla sospensione di cellule concentrata una quantità di CHANG Medium C sufficiente a ottenere un volume finale nella piastra di 0,5 ml per ogni vetrino coprioggetti (totale di 4 vetrini coprioggetti) o 2 ml per ogni minifiasca.
3. Incubare le colture indisturbate a 37 °C in atmosfera al 5% di CO₂.

4. Al giorno 2, aggiungere alle colture 2 ml di CHANG Medium C.

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 C 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 C il giorno prima della raccolta.

Uso di CHANG Medium C per colture primarie Metodologie in fiasca

1. Centrifugare il liquido amniotico a bassa velocità per concentrare le cellule.
2. Risospingere 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 risospingere. Aggiungere 4 ml di CHANG Medium C per raggiungere un volume totale di 5 ml per fiasca.
3. Incubare le colture indisturbate a 37 °C in atmosfera al 5% di CO₂.
4. Verificare la crescita al giorno 5. Sostituire il terreno con CHANG Medium C fresco e raccogliere se si osserva una crescita cellulare sufficiente.
5. Verificare la crescita delle colture; successivamente sostituire completamente il terreno a giorni alterni 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 C il giorno prima della raccolta.

NOTA: per sistemi chiusi, irrigare ogni fiaschetta culturale con aria al 5% di CO₂ per 20 secondi. Avvitare accuratamente i tappi delle fiasche e incubare a 37 °C (si raccomanda di collegare una pipetta Pasteur sterile alla fonte di CO₂ per garantire la sterilità del gas in ingresso).

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

CONSERVAZIONE E STABILITÀ

Conservare CHANG Medium C supplemento congelato a una temperatura inferiore a -10 °C, CHANG Medium C supplemento liofilizzato, CHANG Medium B Basal e CHANG Medium C completo a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C. CHANG Medium B Basal non deve essere congelato.

Proteggere da luce fluorescente.

Le date di scadenza specifiche sono indicate sulle etichette dei flaconi dei singoli componenti. Complete CHANG Medium C può essere conservato a 2-8 °C per 10 giorni prima dell'uso senza comprometterne le prestazioni. Si raccomanda di non conservare per oltre 10 giorni.

NON CONGELARE COMPLETE CHANG MEDIUM C.**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 utilizzare i componenti di CHANG Medium C dopo la data di scadenza indicata sulle rispettive etichette.

INDICACIÓN DE USO

El CHANG Medium C 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 SISTEMAS DE CULTIVO ABIERTOS (CULTIVOS EQUILIBRADOS EN UNA ATMÓSFERA CON UN 5 % DE CO₂) Y CERRADOS (CULTIVOS INUNDADOS CON UN 5 % DE CO₂ E INCUBADOS CON RECIPIENTES DE CULTIVO HÉRMETICAMENTE CERRADOS).

DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO

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

COMPONENTES

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

GARANTÍA DE CALIDAD**ESTERILIDAD**

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

PREPARACIÓN PARA EL USO**Lyophilized Supplement**

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

a 37 °C durante 5 a 10 minutos para disolver completamente el suplemento.)

4. Llevar en condiciones asépticas todo el contenido reconstituido del CHANG Medium C Supplement al frasco del CHANG Medium B Basal.
5. Mezclar bien por balanceo el frasco del CHANG Medium C completo.
6. Añadir L-glutamina, 10,0 ml/l (200 mM). Se pueden añadir antibióticos si se desea.

Suplemento congelado

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

DIVIDIR EN ALÍCUOTAS EL CHANG MEDIUM C SUPPLEMENT**Lyophilized Supplement**

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

1. Reconstituir el CHANG Medium C Lyophilized Supplement.
2. Repartir en alícuotas de tamaño adecuado en condiciones asépticas y congelar.
3. Dispensar asimismo en condiciones asépticas el CHANG Medium B Basal en el número correspondiente de alícuotas.
4. Para preparar el CHANG Medium C completo, añadir una alícuota del CHANG Medium C Supplement descongelado a una alícuota del CHANG Medium B Basal.
5. Mezclar bien.

Suplemento congelado

1. Reconstituir el suplemento congelado del CHANG Medium C.
2. Repartir en alícuotas de tamaño adecuado en condiciones asépticas y volver a congelar. (NOTA: El vial del suplemento contiene 14 ml o 70 ml. Distribuir de forma equitativa.)
3. Dispensar asimismo en condiciones asépticas el CHANG Medium B Basal en el número correspondiente de alícuotas.
4. Para preparar el CHANG Medium C completo, añadir una alícuota del CHANG Medium C Supplement descongelado a una alícuota del CHANG Medium B Basal.
5. Mezclar bien.

INSTRUCCIONES DE USO

EL pH DEL MEDIO UTILIZADO PARA ALIMENTAR LOS CULTIVOS DEBE SITUARSE ENTRE 6,8 Y 7,2 (es decir, el medio debe tener color entre ligeramente amarillo y salmón). El pH se puede ajustar con facilidad colocando el medio (con el tapón ligeramente aflojado) en una incubadora con 5-8 % de CO₂.

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

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

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

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 C a la suspensión celular concentrada para disponer de un volumen final de siembra de 0,5 ml por cubreobjetos (en total, 4 cubreobjetos) o 2 ml por frasquito.

3. Incubar los cultivos sin perturbaciones a 37 °C en una atmósfera con 5 % de CO₂.

4. Inundar los cultivos el día 2 añadiendo 2 ml del CHANG Medium C.
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 C. 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 nutren con el CHANG Medium C el día antes de la cosecha.

Uso del CHANG Medium C 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 C hasta un volumen total de 5 ml por frasco.
3. Incubar los cultivos sin perturbaciones a 37 °C en una atmósfera con 5 % de CO₂.
4. Comprobar el crecimiento en el día 5. Cambiar el medio por el CHANG Medium C 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 dos días hasta que las colonias alcancen un número suficiente y estén listas para la cosecha.
6. Los mejores resultados se obtienen cuando los cultivos se nutren con el CHANG Medium C el día antes de la cosecha.

NOTA: En sistemas cerrados, purgar cada frasco de cultivo con 5 % de CO₂ - 95 % de aire durante 20 segundos. Apriete los tapones de los frascos de cultivo e incuba a 37 °C. (Se recomienda conectar una pipeta Pasteur estéril taponada a la toma de CO₂ para garantizar la esterilidad del gas entrante).

Uso del CHANG Medium C para la expansión de células de líquido amniótico subcultivadas:

Para subcultivar las células, tratar los cultivos con trípsis (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 C 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.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

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

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

PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

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

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

FRANÇAIS

INDICATION D'UTILISATION

CHANG Medium C 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 prélevements de villosités chorales de la membrane amniotique.

CE MILIEU A ÉTÉ CONÇU POUR ÊTRE UTILISÉ DANS DES SYSTÈMES DE CULTURE OUVERTE (CULTURES ÉQUILIBRÉES DANS UNE ATMOSPHÈRE À 5 % DE CO₂) ET FERMÉE (CULTURES INONDÉES AVEC 5 % DE CO₂ ET INCUBÉES DANS LES FLACONS FERMÉS HÉRMÉTIQUEMENT).

DESCRIPTION DU DISPOSITIF

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

COMPOSANTS

Sels et ions	Protéines, hormones et facteurs de croissance	Indicateur de pH
Chlorure de sodium	Rouge de phénol	
Sélénite de sodium	Vitamines et oligo-éléments	
Chlorure de calcium	Sérum de veau	
Chlorure de choline	Sérum de veau foetal (SVF)	
Chlorure de potassium	Sérum de veau naissant	
Phosphate de potassium	Transferrine humaine	
Chlorure de magnésium	Facteur de croissance des fibroblastes	
Sulfate de magnésium	Insuline	
Phosphate de sodium	Progesterone	
Sulfate de fer	Testostérone	
Sulfate de cuivre	Béta-estradiol	
Sulfate de zinc	Hydrocortisone	
Tampon	Eau	
Bicarbonate de sodium	Qualité WFI	
Acides aminés	Autre	
Alanine	Hypoxanthine	
Arginine	Biotine	
Asparagine	Putrescine	
Acide aspartique	Alcool éthylique	
Cystéine	Antioxydant	
Cystine	Acide thiocyanique	
Acide glutamique	Acides nucléiques	
Glutamine	Désoxyadénosine	
Glycine	Désoxycytidine	
Histidine	Désoxyguanosine	
Isoleucine	Adénosine	
Leucine	Cytidine	
Lysine	Guanosine	
Méthionine	Thymidine	
Phénylalanine	Uridine	
Proline	Substrats énergétiques	
Sérine	Glucose	
Thrénanine	Pyruvate	
Tryptophane	Inositol	
Tyrosine		
Valine		

ASSURANCE QUALITÉ

STÉRILITÉ

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

PRÉPARATION

Supplément lyophilisé

1. Permettre au supplément lyophilisé de CHANG Medium C de s'équilibrer à température ambiante.
2. En utilisant des techniques aseptiques, ajouter 10 ml ou 50 ml d'eau distillée stérile au lyophilisat. Le tube

- de 10 ml correspond à 90 ml de milieu de base de CHANG Medium B ; le tube de 50 ml correspond à 450 ml de milieu de base de CHANG Medium B.
3. Agiter légèrement le tube pour bien mélanger la solution. (REMARQUE : il peut être nécessaire d'incuber le tube à 37 °C pendant 5 à 10 minutes pour dissoudre complètement le supplément.)
4. Transférer stérilement le contenu complet du supplément de CHANG Medium C reconstitué dans le tube de milieu de base de CHANG Medium B.
5. Mélanger bien le milieu complet de CHANG Medium C en agitant le tube.
6. Ajouter de la glutamine L (concentration de 10 ml/l, soit 200 mM). Des antibiotiques peuvent également être ajoutés, le cas échéant.

Supplément congelé

1. Décongeler rapidement le supplément congelé de CHANG Medium C en agitant le tube dans un bain-marie à 37 °C.
2. Transférer stérilement le contenu complet du supplément décongelé de CHANG Medium C dans le tube de milieu de base de CHANG Medium B.
3. Mélanger bien le milieu complet de CHANG Medium C en agitant le tube.
4. Ajouter de la glutamine L (concentration de 10 ml/l, soit 200 mM). Des antibiotiques peuvent également être ajoutés, le cas échéant.

PRÉPARATION D'ALIQUOTES DE SUPPLÉMENT DE CHANG MEDIUM C

Supplément lyophilisé

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

1. Reconstituer le supplément lyophilisé de CHANG Medium C.
2. Répartir stérilement en plusieurs aliquotes de taille appropriée et congeler.
3. Répartir stérilement le milieu de base de CHANG Medium B en un nombre égal d'ali quotes.
4. Préparer le milieu complet de CHANG Medium C en ajoutant une ali quote de supplément décongelé de CHANG Medium C à une ali quote de milieu de base de CHANG Medium B.
5. Bien mélanger.

Supplément congelé

1. Décongeler le supplément congelé de CHANG Medium C.
2. Répartir stérilement en plusieurs aliquotes de taille appropriée et recongeler. (REMARQUE : le flacon de supplément contient 14 ml ou 70 ml. Répartir équitablement.)
3. Répartir stérilement le milieu de base de CHANG Medium B en un nombre égal d'ali quotes.
4. Préparer le milieu complet de CHANG Medium C en ajoutant une ali quote de supplément décongelé de CHANG Medium C à une ali quote de milieu de base de CHANG Medium B.
5. Bien mélanger.

MODE D'EMPLOI

LE pH DU MILIEU UTILISÉ POUR ALIMENTER LES CULTURES DOIT SE SITUER ENTRE 6,8 ET 7,2 (c.-à-d. le milieu doit être de couleur légèrement jaunâtre-saumon). Le pH peut facilement être ajusté en placant le tube de milieu dans une étuve à CO₂ (5 à 8 %), le bouchon légèrement dévisé.

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

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

Utilisation de CHANG Medium C pour les cultures 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 C à la

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

3. Incuber les cultures sans agitation à 37 °C en atmosphère de CO₂ à 5 %.
4. Inonder les cultures le deuxième jour en ajoutant 2 ml de CHANG Medium C.
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 C 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 C la veille de la collecte.

Utilisation de CHANG Medium C 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 C pour obtenir un volume total de 5 ml par flacon.
3. Incuber les cultures sans agitation à 37 °C en atmosphère de CO₂ à 5 %.
4. Vérifier la croissance des cultures le cinquième jour. Changer le milieu avec du CHANG Medium C 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 deux 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 C la veille de la collecte.

REMARQUE : pour les systèmes de culture fermée, rincer chaque flacon de culture avec un mélange de 5 % de CO₂ et de 95 % d'air pendant 20 secondes. Bien visser les bouchons des flacons de culture et les incuber à 37 °C. (Il est recommandé de fixer une pipette Pasteur avec tampon ouaté stérile à la source de CO₂ pour s'assurer de la stérilité du gaz entrant.)

Utilisation de CHANG Medium C pour le repiquage des cellules du liquide amniotique :

Pour repiquer les cellules, traiter les cultures avec de la trypsin (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 C 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.

CONSERVATION ET STABILITÉ

Conserver le supplément congelé de CHANG Medium C en dessous de -10 °C et le supplément lyophilisé de CHANG Medium C, le milieu de base de CHANG Medium B et le milieu complet de CHANG Medium C entre 2 et 8 °C. Le milieu de base de CHANG Medium B ne doit pas être congelé.

Protéger de la lumière fluorescente.

Consulter la date de péremption de chaque composant sur les étiquettes de leur flacon respectif. Le milieu complet de CHANG Medium C peut être conservé entre 2 et 8 °C pendant 10 jours avant son utilisation sans que ses fonctions en soient compromises. La conservation au-delà de 10 jours n'est pas recommandée.

NE PAS CONGELER LE MILIEU COMPLET DE CHANG MEDIUM C.

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

PORTEGUÊS

INDICAÇÃO DE UTILIZAÇÃO

O CHANG Medium C pode ser utilizado nas seguintes aplicações:

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

ESTE MEIO FOI CONCEBIDO PARA SER UTILIZADO EM SISTEMAS DE CULTURA ABERTOS (CULTURAS EQUILIBRADAS COM UMA ATMOSFERA DE 5% DE CO₂) E SISTEMAS DE CULTURA FECHADOS (CULTURAS INUNDADAS COM 5% DE CO₂ E INCUBADAS COM OS RECIPIENTES DE CULTURA BEM TAPADOS).

DESCRIÇÃO DO DISPOSITIVO

O CHANG Medium C foi desenvolvido para a cultura primária de células do líquido amniótico humano para utilização na cariotipagem e outros testes genéticos pré-natais. ESTA FÓRMULA FOI OTIMIZADA TANTO PARA SISTEMAS ABERTOS COMO FECHADOS.

COMPONENTES

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

GARANTIA DE QUALIDADE

ESTERILIDADE

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

PREPARAÇÃO PARA UTILIZAÇÃO

Suplemento liofilizado

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

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

Suplemento congelado

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

DIVIDIR EM ALÍQUOTAS O SUPLEMENTO CHANG MEDIUM C

Suplemento liofilizado

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

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

Suplemento congelado

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

INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

O pH DO MEIO UTILIZADO PARA ALIMENTAÇÃO DAS CULTURAS TEM DE SE SITUAR ENTRE 6,8 E 7,2 (ou seja, a cor do meio tem de ser ligeiramente amarelaada a salmão). O ajuste do pH pode ser facilmente efetuado, colocando o meio numa incubadora com 5%-8% de CO₂ com a tampa ligeiramente desapertada.

O pH final tem de se situar entre 6,8 e 7,2. Para obter mais informações sobre a utilização destes produtos, cada laboratório deve consultar os respetivos procedimentos e protocolos que tenham sido concebidos e otimizados especificamente para o seu programa médico.

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

- Centrifuge 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 C suficiente à suspensão de células

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

- Incube as culturas sem interferência a 37 °C numa atmosfera de 5% de CO₂.
- Inunde as culturas no 2.º dia, adicionando 2 ml de CHANG Medium C.
- O crescimento das culturas deve ser verificado após 4 a 5 dias. Logo que se observe crescimento, as culturas devem ser alimentadas. Alimente as culturas, removendo todo o sobrenadante da cultura e substituindo-o por 2 ml de CHANG Medium C fresco. Recomenda-se que as culturas sejam alimentadas a cada 2 dias daí em diante.
- Verifique o crescimento das culturas no 5.º dia ou após esse dia e proceda à colheita quando se observarem colônias suficientes.
- Os melhores resultados obtêm-se quando as culturas são alimentadas com CHANG Medium C no dia anterior à colheita.

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

- Centrifuge 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 C para um volume total de 5 ml por frasco.
- Incube as culturas sem interferência a 37 °C numa atmosfera de 5% de CO₂.
- Verifique se existe crescimento no 5.º dia. Substitua o meio por CHANG Medium C fresco e efetue a colheita caso se observe um crescimento de células suficiente.
- Verifique o crescimento das culturas e substitua totalmente o meio em dias alternados daí em diante até se observarem colônias suficientes prontas para colheita.
- Os melhores resultados obtêm-se quando as culturas são alimentadas com CHANG Medium C no dia anterior à colheita.

NOTA: no caso de sistemas fechados, irrigue cada frasco de cultura com 5% de CO₂-95% de ar durante 20 segundos. Aperte as tampas dos frascos de cultura e incube-os a 37 °C. (Recomenda-se a ligação de uma pipeta de Pasteur estéril rolhada à fonte de CO₂ para garantir a esterilidade do gás que entra.)

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

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

CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE

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

Proteger da luz fluorescente.

Consulte os prazos de validade específicos nos rótulos dos frascos da cada componente. O CHANG Medium C completo pode ser conservado entre 2 °C e 8 °C durante 10 dias antes da utilização, sem que a sua função seja afetada. Não se recomenda um período de conservação superior a 10 dias.

NÃO CONGELE O CHANG MEDIUM C COMPLETO.

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

ΕΛΛΗΝΙΚΑ

ΕΝΔΕΙΞΗ ΧΡΗΣΗΣ

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

1. την πρωτογενή καλλιέργεια κυττάρων αμνιακού υγρού
2. την ανάπτυξη κυττάρων υποκαλλιεργειών αμνιακού υγρού
3. την καλλιέργεια κυττάρων του μυελού των οστών
4. τη δειγματοληψία συμπαγών αμνιακού ιστού από χοριακές λάρνες.

ΤΟ ΜΕΣΟ ΑΥΤΟ ΕΧΕΙ ΣΧΕΔΙΑΣΤΕΙ ΓΙΑ ΧΡΗΣΗ ΣΕ ΑΝΟΙΚΤΑ (ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ ΙΣΟΡΡΟΠΗΜΕΝΕΣ ΜΕ ΑΤΜΟΣΦΑΙΡΑ 5% CO₂) ΚΑΙ ΚΛΕΙΣΤΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ (ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ ΓΕΜΙΣΜΕΝΕΣ ΜΕ 5% CO₂ ΚΑΙ ΕΠΩΔΗΣΜΕΝΕΣ ΜΕ ΤΑ ΔΟΧΕΙΑ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ ΣΦΙΧΤΑ ΠΩΜΑΤΙΣΜΕΝΑ).

ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΗΣ ΣΥΣΚΕΥΗΣ

Το CHANG Medium C αναπτύχθηκε για την πρωτογενή καλλιέργεια ανθρώπινων κυττάρων αμνιακού υγρού για χρήση σε καρπούποποίση και άλλες προγενητικές γενετικές εξετάσεις. ΑΥΤΗ Η ΣΥΝΘΕΣΗ ΕΧΕΙ ΒΕΛΤΙΣΤΟΠΟΙΗΘΕΙ ΓΙΑ ΑΝΟΙΚΤΑ ΚΑΙ ΚΛΕΙΣΤΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ.

ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ

Άλατα και ίόντα	Πρωτεΐνες, ορμόνες και αιυτέρωτοι	Δείκτης pH
Χλωριούχο νάτριο	Παράγοντες	Ερυθρό της φανόλης
Χλωριούχο ασβέστιο	Ορός από έμβρυο βοσκεδίνων (FB5)	Βιταμίνες και ιγνωστοτεία
Χλωριούχος χολίνη	Ορός από νεογόνο βοσκεδίνων	Αστροβικό οξύ
Χλωριούχο κάλιο	Ανθρώπινη τρανσφερίνη	Φυλλικό οξύ
Φωταφορικό κάλιο	Αυθητικός παράγοντας	Νικοτινομίδη
Χλωριούχο μαγνήσιο	Ινοβλαστών (FGF)	Ριβφολαβίνη
Θειοκό μαγνήσιο	Ινσουλίνη	Θειαμίνη
Φωταφορικό νάτριο	Προγεστερόνη	Παντοειδικό οξύ
Θειοκός στρόφος	Τεστοστερόνη	Κοφαλαμίνη
Θειοκός χαλκός	Βήτα οιστραδόλη	Πυριδοξάλη
Θειοκός ψευδάργυρος	Υδροκορτίζονη	Πυριδοξίνη
Ρυθμιστικό διάλυμα	Νερό	Νερό
Διπανθρακικό νάτριο	Ποιότητα ενέσιμου ύδατος (WFI)	Ποιότητα ενέσιμου ύδατος (WFI)
Αμινόξεα	Άλλα	Άλλα
Αλανίνη	Υποχρινθίνη	Υποχρινθίνη
Αργινίνη	Ποιτρεσκίνη	Ποιτρεσκίνη
Ασπαραγίνη	Αιθυλική αλκοόλη	Αιθυλική αλκοόλη
Ασπαρτικό οξύ	Αντιοξειδωτικό	Αντιοξειδωτικό
Κυστεΐνη	Θειοκόλο οξύ	Θειοκόλο οξύ
Κυστίνη	Νουκλεϊκό οξέα	Νουκλεϊκό οξέα
Γλουταμικό οξύ	Δεξαμενονίνη	Δεξαμενονίνη
Γλουταμίνη	Δεοξικιτιδίνη	Δεοξικιτιδίνη
Ιστιδίνη	Δεοξυγουανοσίνη	Δεοξυγουανοσίνη
Ισολευκίνη	Αδενοσίνη	Αδενοσίνη
Λευκίνη	Κυτιδίνη	Κυτιδίνη
Λυσινή	Γουανοσίνη	Γουανοσίνη
Μεθειονίνη	Θυμιδίνη	Θυμιδίνη
Φαινούλανινη	Ουριδίνη	Ουριδίνη
Προκίνη	Ενεργειακά υποστρώματα	Ενεργειακά υποστρώματα
Σερίνη	Γλυκόζη	Γλυκόζη
Θρενίνη	Πυροσταφαλικό	Πυροσταφαλικό
Τρυπτοφάνη	Ινσοπόλη	Ινσοπόλη

ΔΙΑΣΦΑΛΙΣΗ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ

ΣΤΕΙΡΟΤΗΤΑ

Ο ορός που χρησιμοποιείται στην παραγωγή του συμπληρώματος CHANG Medium C έχει ελεγχθεί για ιογενή μόλυνση σύμφωνα με το CFR Title 9 Part 113.53. Έχει επίσης εξεταστεί για μόλυνση από μυκόλασμα. Τόσο το CHANG Medium B Basal όσο και το συμπλήρωμα CHANG Medium C έχουν αποτελεσθεί μέσω διήθησης με φίλτρο 0,1 μικρομέτρων. Αντιρρωπευτικά δείγματα του CHANG Medium B Basal και του συμπληρώματος CHANG Medium C ελέγχονται για πιθανή βακτηριολογική μόλυνση, ακολουθώντας τη πρωτόκολλο δοκιμασίας στειρότητας που περιγράφεται στην πρέχουσα δοκιμασία στειρότητας κατά USP <71>.

ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΧΡΗΣΗΣ

Λυοφιλοποιημένο συμπλήρωμα

1. Αρίστε το λυοφιλοποιημένο συμπλήρωμα CHANG Medium C να ισορροπήσει σε θερμοκρασία δυματίου.
2. Χρησιμοποιώντας άσηπτες τεχνικές, προσθέστε 10 mL ή 50 mL αποστειρωμένου απεσταγμένου νερού στο λυοφιλοποιημένο υλικό. Το φιαλίδιο των 10 mL προορίζεται για 90 mL CHANG Medium B Basal. Το φιαλίδιο των 50 mL προορίζεται για 450 mL CHANG Medium B Basal.
3. Περιδινίστε το φιαλίδιο με ήπιες κινήσεις για να δημιουργήσετε πλήρες διάλυμα. (ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Μπορεί να χρειαστεί να επωάστε το φιαλίδιο στους 37 °C για 5 έως 10 λεπτά, ώστε να διαλυθεί πλήρως το συμπλήρωμα).
4. Μεταφέρετε υπό άσηπτες συνθήκες όλα τα περιεχόμενα του αποσυμμένου συμπληρώματος CHANG Medium C στη φιάλη του CHANG Medium B Basal.
5. Αναμίξτε καλά το πλήρες CHANG Medium C περιδινίζοντας τη φιάλη.
6. Προσθέστε L-γλουταμίνη, 10,0 mM/L (200 mM). Μπορείτε να προσθέστε αντιβιοτικά αν το επιθυμείτε.

Κατεψυγμένο συμπλήρωμα

1. Αποψύξτε το κατεψυγμένο συμπλήρωμα CHANG Medium C γρήγορα, περιδινίζοντας το φιαλίδιο σε υσταθόλουτρο θερμοκρασίας 37 °C.
2. Μεταφέρετε υπό άσηπτες συνθήκες όλα τα περιεχόμενα του αποσυμμένου συμπληρώματος CHANG Medium C στη φιάλη του CHANG Medium B Basal.
3. Αναμίξτε καλά το πλήρες CHANG Medium C περιδινίζοντας τη φιάλη.
4. Προσθέστε L-γλουταμίνη, 10,0 mM/L (200 mM). Μπορείτε να προσθέστε αντιβιοτικά αν το επιθυμείτε.
5. Μετά από 4 έως 5 μέρες, 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 φρέσκο CHANG Medium C. Συνιστάται η παροχή θρεπτικού υλικού στις καλλιέργειες κάθε 2 ημέρες από αυτό το σημείο και έπειτα.
6. Ελέγχετε την ανάπτυξη των καλλιεργειών την 5η ημέρα, ή μετά από αυτήν, και συλλέξτε όταν παρατηρηθούν επαρκείς αποκίες.
7. Τα καλύτερα αποτέλεσμα λαμβάνονται όταν οι καλλιέργειες τρέφονται με CHANG Medium C την ημέρα πριν από τη συλλογή.

Χρήση του CHANG Medium C για πρωτογενείς καλλιέργειες: Μεθοδολογίες με μπουκαλάκια

1. Φυγοκεντρίστε το αμνιακό υγρό σε χαμηλή ταχύτητα, για συμπάκωση των κυττάρων.
2. Επαναλάβατε την ενιαίωρηση 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 επαναλάβατε την ενιαίωρηση. Προσθέστε επαρκή ποσότητα CHANG Medium C στο συμπτωμένο κυτταρικό ενιαίωρημα για να παρασχεθεί τελικός όγκος επίστρωσης 0,5 mL ανά καλυτερίδια (συνολικά 4 καλυτερίδια) ή 2 mL ανά μπουκαλάκι.
3. Επωατάτε τις καλλιέργειες αδιατάρακτες σε ατμόσφαιρα 5% CO₂ στους 37 °C.
4. Γεμίστε την καλλιέργεια τη 3η ημέρα, προσθέτοντας 2 mL CHANG Medium C.
5. Μετά από 4 έως 5 μέρες, 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 φρέσκο CHANG Medium C. Συνιστάται η παροχή θρεπτικού υλικού στις καλλιέργειες κάθε 2 ημέρες από αυτό το σημείο και έπειτα.
6. Για να προετοιμάστε το πλήρες CHANG Medium C, προσθέστε ένα κλάσμα αποψυγμένου συμπληρώματος CHANG Medium C σε ένα κλάσμα CHANG Medium B Basal.
7. Αναμείξτε καλά.

Κατεψυγμένο συμπλήρωμα

1. Αποψύξτε το κατεψυγμένο συμπλήρωμα CHANG Medium C.
2. Διανείμετε, υπό άσηπτες συνθήκες, σε πρακτικού μεγέθους κλάσματα και καταπαύστε.
3. Διανείμετε, επίσης υπό άσηπτες συνθήκες, το CHANG Medium B Basal σε αντίστοιχο αριθμό κλάσμάτων.
4. Για να προετοιμάστε το πλήρες CHANG Medium C, προσθέστε ένα κλάσμα αποψυγμένου συμπληρώματος CHANG Medium C σε ένα κλάσμα CHANG Medium B Basal.
5. Αναμείξτε καλά.

ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ

ΤΟ pH ΤΟΥ ΜΕΣΟΥ ΜΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΕΙΤΑΙ ΓΙΑ ΤΗ ΘΡΕΨΗ ΤΩΝ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ ΠΡΕΠΕΙ ΝΑ ΕΙΝΑΙ ΜΕΤΑΞΥ 6,8 - 7,2 (δηλαδή το μέσο πρέπει να έχει ελαφρώς κίτρινο χρώμα σολομού). Το pH μπορεί να ρυθμίστε ένωκλα, τοποθετώντας το μέσο σε επωαστήρα 5% - 8% CO₂ με το πώμα ελαφρώς χαλαρό.

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

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

Χρήση του CHANG Medium C για την ανάπτυξη κυττάρων υποκαλλιεργειών αμνιακού υγρού:

Για την υποκαλλιεργεία των κυττάρων, επεξεργαστείτε τις καλλιέργειες με θρυψίνη (ή προνάστη κ.λπ.) όπως θα κάνατε εάν τα κύτταρα καλλιεργούνται σε συμβατικό μέσο. Ωστόσο, η επεξεργασία με πρωτέασθι στα πρωτόκολλα την ευαίσθητη προσεκτικά. Τα κύτταρα αμνιακού υγρού που καλλιεργούνται στο CHANG Medium C τείνουν να είναι περισσότερο ευαίσθητο στην επεξεργασία με πρωτέασθι από την πληροφορία.

ΦΥΛΑΞΗ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ

Φυλάσστε το κατεψυγμένο συμπλήρωμα CHANG Medium C κάτιν από τους -10 °C, το λυοφιλοποιημένο συμπλήρωμα CHANG Medium C στους 2 °C έως 8 °C, το CHANG Medium B Basal στους 2 °C έως 8 °C και το πλήρες CHANG Medium C στους 2 °C έως 8 °C. Το CHANG Medium B Basal δεν πρέπει να καταψυχεται. Προστατέψτε το από φθορίζοντας.

Δείτε τις ξεχωριστές επικτήσεις των φιαλών των συστατικών για συγκεκριμένες ημερομηνίες λήξης. Το πλήρες CHANG Medium C μπορεί να φυλαχτεί στους 2 °C έως 8 °C για 10 ημέρες πριν τη χρήση, χωρίς να επηρεαστεί η λειτουργία του. Δεν συνιστάται η φύλαξη για διάστημα μεγαλύτερο των 10 ημερών.

ΜΗΝ ΚΑΤΑΨΥΧΕΤΕ ΤΟ ΠΛΗΡΕΣ CHANG MEDIUM C. ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΕΙΣ

Η συσκευή αυτή προορίζεται για χρήση από προσωπικό που έχει εκπαίδευται σε διδικασίες που περιλαμβάνουν την υποδεικνύμενη εφαρμογή για την οποία προορίζεται η συσκευή.

Μη χρησιμοποιείτε τα συστατικά του CHANG Medium C μετά την παρέλευση της ημερομηνίας λήξης που υποδεικνύεται στις επιμέρους επικτήσεις.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Για κλειστά συστήματα, ζεπτύνετε κάθε μπουκαλάκι καλλιέργειας με 5% CO₂ - 95% αέρα για 20 δευτερόλεπτα. Σφρίζετε τα πώματα στα μπουκαλάκια καλλιέργειας και επωάστε τα στους 37 °C. (Συνιστάται να συνδέεται μια αποστειρωμένη πιπέτα Παστέρ με βύσμα στην πηγή CO₂ για να διασφαλίζεται η στειρότητα του εισερχόμενου αερίου.).

ČEŠTINA

INDIKACE PRO POUŽITÍ

CHANG Medium C lze použít pro tyto aplikace:

- primokultivace buněk z plodové vody
- pěstování pasážovaných buněk z plodové vody
- kultivace buněk kostní dřeně
- odběr vzorků pevné amniotické tkáně z choriových klíků

TOTO MÉDIUM JE URČENO K POUŽITÍ V OTEVŘENÝCH (KULTURY EKVILIBROVÁNY S ATMOSFÉROU S 5 % CO₂) I UZAVŘENÝCH KULTIVAČNÍCH SYSTÉMECH (KULTURY ZAPLAVENY 5 % CO₂ A INKUBOVÁNY V PEVNĚ UZAVŘENÝCH KULTIVAČNÍCH NÁDOBÁCH).

POPIS PROSTŘEDKU

CHANG Medium C bylo vyvinuto k primokultivaci lidských buněk z plodové vody pro účely karyotypizace a jiných antenatálních genetických testů. SLOŽENÍ BYLO OPTIMALIZOVÁNO PRO OTEVŘENÉ I UZAVŘENÉ SYSTÉMY.

SLOŽKY

Soli a ionty	Proteiny, hormony a růstové faktory	Indikátor pH
Chlorid sodný	Fetální bovinní sérum (FBS)	fenolová červeň
Seleničitan sodný	Novorozenecké bovinní sérum	Vitaminy a stopové prvky
Chlorid vápenatý	Lidský transferin	Kyselina askorbová
Cholinchlorid	Fibroblastový růstový faktor (FGF)	Kyselina listová
Chlorid draselný	Inzulin	Nikotinamid
Fosforečnan draselný	Progesteron	Riboflavin
Chlorid hořečnatý	Testosteron	Thiamin
Síran hořečnatý	Beta-estradiol	Kyselina pantotenočná
Fosforečnan sodný	Hydrokortison	Kobalamin
Síran železnatý	Voda	Pyridoxal
Síran mědnatý	V kvalitě vody pro injekci	Pyridoxin
Síran zinečnatý	Ostatní	
Puf	Hypoxantin	
Hydrogenuhličitan sodný	Biotin	
Aminokyseliny	Putrescin	
Alanin	Ethylalkohol	
Arginin	Antioxidant	
Asparagin	Kyselina thioktová	
Kyselina asparagová	Nukleové kyseliny	
Cystein	Deoxyadenosin	
Cystin	Deoxycytidin	
Kyselina glutamová	Deoxyguanosin	
Glutamin	Thymidin	
Glycin	Uridin	
Histidin	Adenosin	
Isoleucin	Cytidin	
Leucin	Guanosin	
Lysin	Thymidin	
Methionin	Uridin	
Fenylalanin	Energetické substráty	
Prolin	Glukóza	
Serin	Pyruvát	
Threonin	Inositol	
Tryptofan		
Tyrosin		
Valin		

ZAJIŠTĚNÍ KVALITY

STERILITA

Sérum používané k výrobě doplňku CHANG Medium C bylo testováno na přítomnost virové kontaminace podle předpisů CFR hlava 9 část 113.53. Byl také proveden screening na kontaminaci mykoplasmaty. Jak CHANG Medium B Basal, tak doplněk CHANG Medium C jsou sterilizovány filtrací o jemnosti 0,1 mikronu. Reprezentativní vzorky CHANG Medium B Basal a doplňku CHANG Medium C 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

Lyofilizovaný doplněk

- Nechte lyofilizovaný doplněk CHANG Medium C vytéperovat na pokojovou teplotu.
- Aseptickým postupem přidejte k lyofilizátu 10 ml nebo 50 ml sterilní destilované vody. 10ml lahvička je pro 90ml CHANG Medium B Basal; 50ml lahvička je pro 450ml CHANG Medium B Basal.
- Šetrným kroužením lahvičku zajistěte kompletní rozpuštění. (POZNÁMKA: Pro úplné rozpuštění doplňku může být nutné lahvičku na 5 až 10 minut inkubovat při teplotě 37 °C.)

- Asepticky přeneste celý objem rekonstituovaného doplňku CHANG Medium C do lahve s CHANG Medium B Basal.
- Kompletní médium CHANG Medium C dobře promíchejte kroužením lahví.
- Přidejte L-glutamin, 10,0 ml/l (200 mM). Podle potřeby lze přidat antibiotika.
5. den nebo po něm kontrolujte růst kultur a když zjistíte dostatečné kolonie, proveďte sběr.
- Optimálních výsledků se dosahuje, pokud jsou kultury vyživeny médiem CHANG Medium C den před sběrem.

Zmrazený doplněk

- Zmrazený doplněk CHANG Medium C rychle rozmrázte kroužením lahvičkou ve vodní lázni o teplotě 37 °C.
- Asepticky přeneste celý objem rozmrazeného doplňku CHANG Medium C do lahve s CHANG Medium B Basal.
- Kompletní médium CHANG Medium C dobře promíchejte kroužením lahví.
- Přidejte L-glutamin, 10,0 ml/l (200 mM). Podle potřeby lze přidat antibiotika.

ROZDĚLENÍ DOPLŇKU CHANG MEDIUM C

Lyofilizovaný doplněk

Pokud nebudete moci celý objem CHANG Medium C spotřebovat do 10 dnů, můžete ho rozdělit na menší dály touto modifikací postupu:

- Rekonstituujte lyofilizovaný doplněk CHANG Medium C.
- Asepticky rozdělte na dály o příhodném objemu a zmrazte.
- Rovněž asepticky rozdělte CHANG Medium B Basal na odpovídající počet dílů.
- Kompletní médium CHANG Medium C připravte přidáním jednoho dílu rozmrzeného doplňku CHANG Medium C do jednoho dílu CHANG Medium B Basal.
- Důkladně promíchejte.

Zmrazený doplněk

- Rozmrázte zmrazený doplněk CHANG Medium C.
- Asepticky rozdělte na dály o příhodném objemu a znova zmrazte. (POZNÁMKA: Lahvička doplňku obsahuje 14 ml nebo 70 ml. Rozdělte rovnoměrně.)
- Rovněž asepticky rozdělte CHANG Medium B Basal na odpovídající počet dílů.
- Kompletní médium CHANG Medium C připravte přidáním jednoho dílu rozmrzeného doplňku CHANG Medium C do jednoho dílu CHANG Medium B Basal.
- Důkladně promíchejte.

NÁVOD K POUŽITÍ

pH MÉDIA POUŽÍVANÉHO K VÝŽIVĚ KULTUR MUSÍ BÝT V ROZMEŽÍ 6,8–7,2 (tj. médium musí mít mírně nažloutlou–lososovou barvu). pH lze snadno upravit vložením média s mírně uvolněným uzávěrem do inkubátoru s atmosférou 5 % – 8 % CO₂.

Konečný pH musí být 6,8–7,2.

Další informace o použití těchto výrobků každá laboratoř získá ve vlastních laboratorních metodách a protokoitech vypracovaných a optimalizovaných specificky pro její konkrétní zdravotnický program.

Použití médií CHANG Medium C

k primokultivaci: metody *in situ*

- Odstředěním plodové vody při nízkých otáčkách koncentrujte buňky.
- 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 koncentrované buněčné suspenzi přidejte dostatečné množství CHANG Medium C, abyste výsledně měli 0,5 ml na jedno krycí sklíčko (celkem 4 krycí sklíčka) nebo 2 ml na kultivační lahvičku.
- Inkubujte kultury nerušeně při teplotě 37 °C a v atmosféře s 5 % CO₂.
2. den kultury zaplavte přidáním 2 ml CHANG Medium C.
- Po 4 až 5 dnech zkонтrolujte růst kultur. Jakmile začnou růst, je třeba dodat živiny. Živiny dodejte tak, že odstraníte veškerý supernatant kultury a nahradíte ho 2 ml čerstvého CHANG Medium C. Poté doporučujeme kulturám doplňovat živiny každé 2 dny.

5. den nebo po něm kontrolujte růst kultur a když zjistíte dostatečné kolonie, proveďte sběr.

- Optimálních výsledků se dosahuje, pokud jsou kultury vyživeny médiem CHANG Medium C den před sběrem.

Použití médií CHANG Medium C

k primokultivaci: metody s využitím kultivačních lahví

- Odstředěním plodové vody při nízkých otáčkách koncentrujte buňky.
- 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 médií CHANG Medium C; celkový objem na kultivační lahev bude 5 ml.
- Inkubujte kultury nerušeně při teplotě 37 °C a v atmosféře s 5 % CO₂.
5. den zkонтrolujte růst. Náhradě médiu čerstvým médiem CHANG Medium C a, pokud zjistíte dostatečný růst buněk, proveďte sběr.
- Následně kontrolujte růst kultur a provádějte úplné výměny médií každý druhý den, dokud nezjistíte dostatečné kolonie a nejste připraveni ke sběru.
- Optimálních výsledků se dosahuje, pokud jsou kultury vyživeny médiem CHANG Medium C den před sběrem.

POZNÁMKA: U uzavřených systémů každou kultivační lahev profoukněte po dobu 20 sekund směsi 5 % CO₂ a 95 % vzduchu. Utáhněte uzávěry inkubačních lahví a inkubujte je při teplotě 37 °C. (K zaručení sterility příváděného plynu se doporučuje ke zdroji CO₂ připojit sterilní zazátkovanou Pasteurovou pipetu.)

Použití médií CHANG Medium C

k pěstování pasážovaných buněk z plodové vody:

Buňky pasážujte ošetřením kultur trypsinem (nebo pronáozou 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 C mají tendenci k větší citlivosti na ošetření proteázou než buňky z plodové vody pěstované v konvenčním médiu. S ohledem na tu skutečnost bude možná třeba upravit používaný protokol.

UCHOVÁVÁNÍ A STABILITA

Uchovávejte zmrazený doplněk CHANG Medium C při teplotě nižší než -10 °C, lyofilizovaný doplněk CHANG Medium C při teplotě 2 °C až 8 °C, CHANG Medium B Basal při teplotě 2 °C až 8 °C a kompletní médium CHANG Medium C při teplotě 2 °C až 8 °C. CHANG Medium B Basal chráťte před mrazem.

Chraňte před fluorescenčním světlem.

Specifická data exspirace naleznete na štítcích lahví jednotlivých složek. Kompletní médium CHANG Medium C lze uchovávat při teplotě 2 °C až 8 °C po dobu 10 dní před použitím, aniž by tím byly dotčeny jeho vlastnosti. Skladování po dobu delší než 10 dní se nedoporučuje.

CHRANTE KOMPLETNÍ MÉDIUM CHANG MEDIUM C PŘED MRAZEM.

BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ A VAROVÁNÍ

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

Složky médií CHANG Medium C nepoužívejte po uplynutí dat exspirace vyznačených na jednotlivých štítcích.

INDIKATIONER FOR ANVENDELSE

CHANG Medium C kan anvendes til følgende applikationer:

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

DETTE MEDIUM ER FREMSTILLET TIL BRUG I BÅDE ÅBNE (KULTURER DER ER TILPASSET EN ATMOSFÆRE PÅ 5 % CO₂) OG LUKKEDE DYRKNINGSSYSTEMER (KULTURER TILSAT 5 % CO₂ OG INKUBERET MED TÆT LUKKET LÅG PÅ DYRKNINGSKARRENE).

BESKRIVELSE AF PRODUKTET

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

KOMPONENTER

Salte og ioner	Proteiner, hormoner og væksfaktorer	pH-indikator
Natriumklorid	Føltalt bovint serum	Rød fenol
Natriumselenit	(FBS)	Vitaminer og sporelementer
Kaliumklorid	Serum fra nyfødt kalv	Ascorbinsyre
Kolinklorid	Human transferrin	Folinsyre
Kaliumklorid	Fibroblastvækstfaktor (FGF)	Nicotinamid
Kaliumfosfat	Insulin	Riboflavin
Magnesiumklorid	Progesteron	Thiamin
Magnesiumsulfat	Testosteron	Pantothensyre
Natriumfosfat	Beta-estradiol	Cobalamin
Jernsulfat	Hydrokortison	Pyridoxal
Cuprisulfat	Vand	Pyridoxin
Zinksulfat	Af kvalitet til injektionsvæske	
<u>Buffer</u>	<u>Andet</u>	
Natriumbikarbonat	Afhængigt af kvaliteten af vandet	
<u>Aminosyrer</u>	Hypoxanthin	
Alanin	Biotin	
Arginin	Putrescin	
Asparagin	Etætkalkohol	
Asparaginsyre	Thiocystre	
Cystein	Nukleinsyrer	
Cystin	Deoxyadenosin	
Glutaminsyre	Deoxycytidin	
Glutamin	Deoxyguanosin	
Glycin	Adenosin	
Histidin	Cytidin	
Isoleucin	Guanosin	
Leucin	Thymidin	
Lysin	Uridin	
Methionin	Energisubstrater	
Phenylalanin	Glukose	
Prolin	Pyruvat	
Serin	Inositol	
Threonin		
Tryptofan		
Tyrosin		
Valin		

KVALITETSSIKRING**STERILITET**

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

KLARGØRING**Lyofiliseret supplement**

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

CHANG Medium B Basal.

5. Bland complete CHANG Medium C godt ved at hvirve flasken.
6. Tilsæt L-glutamin, 10,0 ml/l (200 mM). Der kan eventuelt tilslættes antibiotika.

Frossent supplement

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

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

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

1. Rekonstituer CHANG Medium C lyofiliseret supplement.
2. Fordel mediet aseptisk i mængder af passende størrelse, og nedfrys dem.
3. Dispenser også aseptisk CHANG Medium B Basal i et tilsvarende antal mængder.
4. Complete CHANG Medium C klargøres ved at tilslætte én afmålt mængde optøet CHANG Medium C-supplement til én afmålt mængde CHANG Medium B Basal.
5. Bland godt.

Frossent supplement

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

BRUGSANVISNING

pH-VÆRDIEN AF DET MEDIUM, DER ANVENDES TIL KULTURERNE, SKAL VÆRE 6,8-7,2 (dvs. at mediet skal have en let gullig laksefarve). pH-værdien kan let justeres ved at anbringe mediet i en inkubator med 5-8 % CO₂ med låget løsningslet.

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

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

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

1. Centrifuger amnionvæsken ved lav hastighed for at koncentrere cellerne.
2. Resuspende cellepelletten i en lille volumen af patientens egen amnionvæske. Aspirer f.eks. supernatanten fra 10 ml centrifugert amnionvæske til 0,5 ml over cellepelletten, og resuspende. Tilsæt nok CHANG Medium C til den koncentererede cellesuspension til at få en endelig udsæningsvolumen på 0,5 ml pr. dækglas (i alt 4 dækglass) eller 2 ml pr. ampul.
3. Inkubér kulturerne uforstyrret ved 37 °C i en atmosfære med 5 % CO₂.
4. Skyl kulturerne på dag 2 ved at tilslætte 2 ml CHANG Medium C.
5. Efter 4-5 dage skal kulturerne vækst kontrolleres. Kulturerne skal næres, når der er observeret vækst. Dette gøres ved at fjerne hele kultursupernatanten og erstatte den med 2 ml friskt CHANG Medium C. Det anbefales, at kulturerne næres hver anden dag herefter.
6. Kontroller kulturerne vækst på/eller efter dag 5, og høst, når der observeres nok kolonier.
7. De bedste resultater opnás, hvis kulturerne forsynes

med CHANG Medium C dagen inden høsten.

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

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

BEMÆRK: Skyl i lukkede systemer hver dyrkningskolbe med 5 % CO₂ – 95 % luft i 20 sekunder. Luk låget tæt til på dyrkningskolberne, og inkubér ved 37 °C. (Det anbefales at slutte en steril Pasteurpipette med hætte til CO₂-kilden for at sikre, at den indgående gas er steril).

Anvendelse af CHANG Medium C til dyrkning af passerede amnionvæskeceller:

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

OPBEVARING OG STABILITET

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

Beskrybes mod fluorescerende lys.

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

COMPLETE CHANG MEDIUM C MÅ IKKE NEDFRYSES.
FORHOLDSREGLER OG ADVARSLER

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

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

KÄYTTÖAIHE

CHANG Medium C -elatusainetta voidaan käyttää seuraaviin tarkoituksiin:

1. lapsivesisolujen primaariviljely
2. siirrostettujen lapsivesisolujen kasvattaminen
3. luydinsolujen viljely
4. kiinteä ammonionkalvokudos istukkabiopsiasta.

TÄMÄ ELATUSAINE ON SUUNNITELTU KÄYTETÄVÄKSI SEKÄ AVOIMISSA JÄRJESTELMISSÄ (VILJELMÄT, JOTKA ON TASAPAINOTETTU 5-PROSENTTISEEN CO₂-ILMAKEHÄÄN) ETTÄ SULJETUSSA JÄRJESTELMISSÄ (VILJELMÄT, JOTKA ON TÄYTETY 5-PROSENTTISELLA CO₂:LLA JA JOITA INKUBOIDAANA VILJELYASTIAT TIUKASTI KORKILLA SULJETTUINA).

VÄLINEEN KUVAUS

CHANG Medium C kehitettiin ihmisen lapsivesisolujen primaariviljelyyn karyotypin määrittämistä ja muita syntymää edeltäviä geneettisiä testejä varten. **TÄMÄ KOOSTUMUS ON OPTIMOITU SEKÄ AVOIMA ETTÄ SULJETTUJA JÄRJESTELMIÄ VARTEN.**

AINESOSAT

Suolet ja ionit	Proteiinit, hormonit ja kasvutekijät	pH-indikaattori
natriumkloridi	naudan sikiön seerumi (FBS)	fenolipuna
natriumseleennitti	vastasyntyneen naudan seerumi ihmisen transferiini	Vitamiinit ja hivenaineet
kalsiumkloridi	ihmisen fibroblastikasvutekijä (FGF)	askorbiinihappo
kolinikloridi	insuliini	foolihappo
kaliumkloridi	progesteroni	nikotiiniamidi
kaliumfosfaatti	testosteroni	riboflaviini
magnesiumkloridi	beetaestradioli	tiamiini
magnesiumsulfaatti	hydrokortisoni	pantoteenihappo
natriumfosfaatti	Vesi	kobalamiini
ferrosulfaatti	injektionesteisiin	pyridoksaali
kuparisulfaatti	tarkoitettun veden laatuinen	pyridoksiini
sinkkisulfaatti	Muut	
Puskuri	hypoksantiini	
natriumbikarbonaatti	biotiini	
Aminohapot	putreskiini	
alaniami	etanol	
arginiini	Antioksidantti	
asparagiini	tioktiiinihappo	
asparagiinihappo	Nukleiiinhapot	
kysteini	deoksiadenosiini	
kystiini	deoksytidyiini	
glutamiinihappo	deoksiguanosiini	
glutamiini	adenosiini	
glyysiini	sytdiini	
histidiini	guanosiini	
isoleusuniini	tymidiini	
leusuniini	uridiini	
lysini	Energiasubstraatit	
metioniini	glukoosi	
fenyylialaniini	pyruvaatti	
proliini	inositoli	
serini		
treonini		
tryptofaanı		
tyrosini		
valiniini		

LAADUNVARMENNUS**STERIILIYS**

CHANG Medium C Supplement -tuotteen valmistuksessa käytettävä seerumi on testattu viruskontaminaation varalta CFR-säännöksen osan 9 pykälän 113.53 mukaisesti. Se on seulottu myös mykoplasmakontaminaation varalta. Sekä CHANG Medium B Basal että CHANG Medium C Supplement on steriloitu suodattamalla 0,1 mikronin suodattimen läpi. CHANG Medium B Basal- ja CHANG Medium C Supplement -tuotteiden edustavat näytteet testataan mahdollisen bakteerikontaminaation varalta noudattaen nykyisessä USP-steriliitystestissä <71> kuvattua steriliitestausmenettelyä.

KÄYTÖN VALMISTELU**Kylmäkuivattu Supplement-tuote**

1. Anna kylmäkuivatun CHANG Medium C Supplement -tuotteen tasapainottua huoneenlämpöön.
2. Lisää aseptista menettelyä käyttääneen 10 ml tai 50 ml steriliiliä tislattua vettä kylmäkuivattuun aineeseen. 10 ml:n pullo on tarkoitettu 90 ml:aan CHANG Medium B Basal -tuotetta ja 50 ml:n pullo on tarkoitettu 450 ml:aan CHANG Medium B Basal -tuotetta.

3. Pyöritä pulloa varovasti täydellisen liikenemisen saavuttamiseksi. (HUOMAUTUS: Ravintolisän liuottamiseksi kokonaan voidaan tarvita pullon inkubointista 37 °C:ssa 5–10 minuutin ajan.)
4. Siirrä aseptista menettelyä käyttääneen nesteeseen liuotetun CHANG Medium C Supplement -tuotteen koko sisältö CHANG Medium B Basal -pulloon.
5. Sekoita hyvin koko CHANG Medium C-pullon sisältö pulloa pyörittämällä.
6. Lisää L-glutamiinia 10,0 ml/l (200 mM). Haluttaessa voidaan lisätä antibiooteja.

Pakastettu Supplement-tuote

1. Sulata pakastettu CHANG Medium C Supplement -tuote nopeasti, 37 °C:n vesihautaessa pulloa pyörittää.
2. Siirrä aseptista menettelyä käyttääneen sulatetun CHANG Medium C Supplement -tuotteen koko sisältö CHANG Medium B Basal -pulloon.
3. Sekoita hyvin koko CHANG Medium C-pullon sisältö pulloa pyörittämällä.
4. Lisää L-glutamiinia 10,0 ml/l (200 mM). Haluttaessa voidaan lisätä antibiooteja.

CHANG MEDIUM C SUPPLEMENT -LIUOKSEN JAKAMINEN ERIIN**Kylmäkuivattu Supplement-tuote**

Jos käytövalmista CHANG Medium C -elatusainetta ei voida käyttää 10 päivän sisällä, voidaan haluttaessa valmistella pienempiä määriä noudattamalla seuraavaa menetelmän muunosta:

1. Liuota kylmäkuivattu CHANG Medium C Supplement -tuote nesteeseen.
2. Jaa aseptista menettelyä käyttääneen kätevän kokoisin eriin ja pakasta ne.
3. Jaa myös CHANG Medium B Basal aseptista menettelyä käyttääneen vastaavaan määärään eriä.
4. Valmista koko valmis CHANG Medium C lisäämällä yksi erä sulatettua CHANG Medium C Supplement -tuotetta yhteen erään CHANG Medium B Basal -liuosta.
5. Sekoita hyvin.

Pakastettu Supplement-tuote

1. Sulata pakastettu CHANG Medium C Supplement -tuote.
2. Jaa aseptista menettelyä käyttääneen kätevän kokoisin eriin ja pakasta uudelleen. (HUOMAUTUS: Ravintolisäpullo sisältää 14 ml tai 70 ml tuotetta. Jaa tasaerii.)
3. Jaa myös CHANG Medium B Basal aseptista menettelyä käyttääneen vastaavaan määärään eriä.
4. Valmista koko valmis CHANG Medium C lisäämällä yksi erä sulatettua CHANG Medium C Supplement -tuotetta yhteen erään CHANG Medium B Basal -liuosta.
5. Sekoita hyvin.

KÄYTTÖOHJEET

VILJELMIEN RAVITSEMISEEN KÄYTETTÄVÄN LIUOKSEN pH-ARVON ON OLTAVA 6,8–7,2 (ts. elatusaineen väri on oltava hieman kellariväri tai lohenpunainen). pH:ta voidaan säätää helposti asettamalla elatusaine 5–8 %:n CO₂-lämpökaapiin korkki hieman löysällä.

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

Kunkin laboratoriorion tulee katsoa lisääohjeet näiden tuotteiden käytööseen varten omista laboratoriokäytäntöjä protokollaohjeistaan, jotka on kehitetty ja optimoitu nimenomaan laboratoriorion omaa terveydenhuolto-ohjelmaa varten.

CHANG Medium C -liuoksen käyttäminen primaariviljelmiin: in situ -menetelmät

1. Konsentroi solut sentrifugoimalla lapsivettä pienellä nopeudella.
2. Suspendoi solusakka pieneen määärään potilaan omaa lapsivettä. Jos esimerkiksi 10 ml:n lapsivesinäytte sentrifugooidaan, aspiroi supernantiaa pois niin, että solusakan yläpuolelle jää 0,5 ml, ja suspendoi näyte uudelleen. Lisää riittävästi CHANG Medium C-liuosta konsentoituoon solususpensioon, niin että lopullinen maljaustilavuus on 0,5 ml / peitinsiä (yhteensä 4 peitinsiä) tai 2 ml / pieni viljelypullo.

3. Inkuboi viljelmiä ilman häiriötä 37 °C:ssa 5-prosenttisessa CO₂-ilmakehäässä.

4. Lisää viljelmiin 2 ml CHANG Medium C -liuosta päivänä 2.

5. Viljelmiens kasvu on tarkistettava 4–5 päivän kuluttua. Viljelmiä on ravittava, kun kasvua on havaittu. Ravitse viljelmiä poistamalla koko viljelmäsurnatantti ja korvaamalla se 2 ml:lla tuorettä CHANG Medium C -liuosta. On suositeltavaa, että viljelmiä ravitaan tämän jälkeen 2 päivän välein.

6. Tarkista viljelmiens kasvu päivänä 5 tai sen jälkeen. Kerää solut, kun havaitaan riittävästi pesäkkeitä.

7. Parhaat tulokset saadaan, kun viljelmiä ravitaan CHANG Medium C-liuksella keräämästä edeltävänä päivänä.

CHANG Medium C -liuoksen käyttäminen primaariviljelmiin: pullomenetelmät

1. Konsentroi solut sentrifugoimalla lapsivettä pienellä nopeudella.
2. Suspendoi solusakka pieneen määärään potilaan omaa lapsivettä. Jos esimerkiksi 10 ml:n lapsivesinäytte sentrifugooidaan, aspiroi supernantiaa pois niin, että solusakan yläpuolelle jää 1,0 ml, ja suspendoi näyte uudelleen. Lisää 4 ml CHANG Medium C -liuosta lopulliseen maljaustilavuuteen 5 ml / viljelypullo.
3. Inkuboi viljelmiä ilman häiriötä 37 °C:ssa 5-prosenttisessa CO₂-ilmakehäässä.
4. Tarkista kasvu päivänä 5. Vaihda elatusaine tuoreeseen CHANG Medium C -liuokseen ja kerää solut, jos havaitaan riittävästi solukasvia.
5. Tarkista viljelmiens kasvu ja vaihda elatusaine kokonaan uuteen sen jälkeen joka toinen päivä, kunnes havaitaan riittävästi pesäkkeitä ja ne ovat valmiita kerättäviksi.
6. Parhaat tulokset saadaan, kun viljelmiä ravitaan CHANG Medium C-liuksella keräämästä edeltävänä päivänä.

HUOMAUTUS: Suljetuissa järjestelmissä jokaista viljelypullossa on huuhdeltava 20 sekunnin ajan seoksella 5 % CO₂ – 95 % ilmaa. Kiristä viljelypullojen korkit kiinni ja inkuboi pulloja 37 °C:ssa. (On suositeltavaa, että CO₂-lähteeseen kiinnitetään steriliili, pumpulitukolla varustettu pasteurpipetti saapuvan kaasun steriliiden varmistamiseksi.)

CHANG Medium C -liuoksen käyttäminen siirrostettujen lapsivesisolujen kasvattamiseen:

Siirrosta solut käsitlemällä viljelmiä trypsiinillä (tai pronaasilla jne.) kuten normaalistikin, kun soluja kasvatetaan perinteisessä elatusaineessa. Proteasakiäsitteilyä on kuitenkin valvottava huolella. CHANG Medium C -liuksessa kasvatetut lapsivesisolut ovat herkempia proteasakiäsiteille kuin perinteisessä elatusaineessa kasvatetut lapsivesisolut. Kasvatamismenetelmää on ehkä muuttettava tämän huomioon ottamiseksi.

SÄILYTTÄMINEN JA STABIIILIS

Säilytä pakastettua CHANG Medium C Supplement -liuosta alle -10 °C:ssa, kylmäkuivattua CHANG Medium C Supplement -tuotetta 2–8 °C:ssa, CHANG Medium B Basal -liuosta 2–8 °C:ssa ja käytövalmista CHANG Medium C -elatusainetta 2–8 °C:ssa. CHANG Medium B Basal -tuotetta ei saa pakastaa. Suojaaa loistevalaisimen valolta.

Katsota täsmälliset viimeiset käyttöpäivät yksittäisten osien pulloetiketeistä. Käytövalmista CHANG Medium C -elatusainetta voidaan säilyttää 2–8 °C:ssa 10 päivän ajan ennen käytööä sen toimintaan vaikuttamatta. Yli 10 päivän säilytysaika ei suositella.

KÄYTÖÖVALMISTA CHANG MEDIUM C -ELATUSAINETTA EI SAA PAKASTAA.**VAROTOIMET JA VAROITUKSET**

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

Älä käytä CHANG Medium C -elatusaineen osia yksittäisissä etiketeissä osoitetun viimeisen käyttöpäivän jälkeen.

LIETOŠANAS INDIKĀCIJA

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

1. Augļa ūdens šūnu primārā kultivēšana.
2. Pārsētu augļa ūdens šūnu audzēšana.
3. Kaulu smadzeju šūnu kultivēšana.
4. Kompaktaijam amnija audiem, kas iegūti horija bārkstīju parauga izmeklēšanai.

ŠĪ BAROTNE IR PAREDZĒTA IZMANTOŠANAI GAN VALĒJĀS (KULTŪRAS LĪDZSVARO 5 % CO₂ VIDĒ), GAN SLĒGTĀS KULTIVĒŠANAS SISTĒMĀS (KULTŪRAS UZPLUDINA AR 5 % CO₂ UN, CIEŠI AR AIZBĀZNI NOSLĒDZOT KULTŪRU TRAUKUS, INKUBĒ).

IERĪCES APRAKSTS

„CHANG Medium C” izstrādāja cilvēka augļa ūdens šūnu primārajai kultivēšanai, lai veiktu kariotipu noteikšanas un citus antenatālos ģenētiskos testus. ŠIS SASTĀVS IR OPTIMIZĒTS IZMANTOŠANAI GAN VALĒJĀS, GAN SLĒGTĀS SISTĒMĀS.

SASTĀVDALĀS

Sāļi un joni	Proteīni, hormoni un augšanas faktori	Enerģijas substrāti
Nātrijs hlorīds		Glikoze
Nātrijs selenīts	Liellopu embriju serum (fetal bovine serum – FBS)	Piruvāts
Kalcija hlorīds		Inozīts
Holīna hlorīds		pH indikators
Kālijā hlorīds	Liellopu jaundzimušo teļu serums	Fenolsarkanas Vitamīni un mikroelementi
Kālijā fosfāts	Cilvēka transferīns Fibroblastu augšanas faktors (fibroblast growth factor – FGF)	Askorbīnskābe
Magnīja hlorīds		Folijskābe
Magnīja sulfāts		Nikotinamīds
Nātrijs sulfāts		Riboflavīns
Dzelzs sulfāts		Tiamīns
Vara sulfāts		Pantotēnskābe
Cinka sulfāts	Bēta estradiols	Kobalamīns
Buferķīdums	Hidrokortizons	Piridoksls
Nātrijs bikarbonāts	Ūdens	Piridoksiņs
Aminoskābes	Injekciju ūdens (WF) kvalitāte	
Alanīns	Citas	
Arginīns	Hipoksantīns	
Asparagīns	Biotīns	
Asparagīnskābe	Putrescīns	
Cisteīns	Etilspīrs	
Cistīns	Antioksidants	
Glutamīnskābe	Tioktīnskābe	
Glutamīns	Nukleīnskābes	
Glicīns	Dezoksiadenozīns	
Histidīns	Dezokscitidīns	
Izoleičīns	Dezoksguanozīns	
Leicīns	Adenoziņs	
Lizīns	Citidīns	
Metionīns	Guanoziņs	
Fenilanīns	Timidiņs	
Prolīns	Uridīns	
Serīns		
Treonīns		
Triptofāns		
Tirozīns		
Valīns		

KVALITĀTES NODROŠINĀŠANA**STERILITĀTE**

„CHANG Medium C” piedevas ražošanā izmantotais serums pārbaudīts, lai noteiktu virusālo piesārnojumu, saskaņā ar nosacījumiem Federālo normatīvo aktu kodeksa (Code of Federal Regulation – CFR) 9. sadaļas 113.53. nodaļā. Tas pārbaudīts arī, lai noteiktu piesārnojumu ar mikoplazmu. Gan pamata „CHANG Medium B”, gan „CHANG Medium C” piedevas ir sterilizēta, filtrējot caur 0,1 mikrona filtru. Atsevišķi pamata „CHANG Medium B” un „CHANG Medium C” piedevas paraugi pārbaudīti, lai noteiktu iespējamu bakteriālo piesārnojumu, atbilstoši sterilitātes testēšanas protokolam, kas aprakstīts pārreizējā ASV Farmakopejas (USP) sterilitātes testā <71>.

SAGATAVOŠANA LIETOŠANAI**Liofilizētā piedeva**

1. Ľaujiet „CHANG Medium C” liofilizētajai piedevai līdzvaroties līdz istabas temperatūrai.
2. Aseptiskā veidā liofilizātam pievienojiet 10 ml vai 50 ml sterila destilētu ūdeni. 10 ml flakons paredzēts 90 ml pamata „CHANG Medium B”; 50 ml flakons paredzēts 450 ml pamata „CHANG Medium B”.

3. Uzmanīgi virpiniet flakonu, lai panāktu pilnīgu izšķīšanu. (PIEZĪME: lai piedevu pilnībā izšķīdinātu, flakonu var būt nepieciešams inkubēt 5–10 minūtes 37 °C temperatūrā).
4. Aseptiskā veidā visu sagatavotās „CHANG Medium C” piedevas saturu pārnesiet uz pamata „CHANG Medium B” pudeli.
5. Labi samaisiet pilnīgo „CHANG Medium C”, virpinot pudeli.
6. Pievienojiet 10,0 ml/l (200 mM) L-glutamīna. Ja vēlams, var pievienot antibiotikas.

Saldētā piedeva

1. Ātri atkausējet „CHANG Medium C” saldēto piedevu, flakonu virpinot 37 °C ūdens vannā.
2. Aseptiskā veidā visu atkausētās „CHANG Medium C” piedevas saturu pārnesiet uz pamata „CHANG Medium B” pudeli.
3. Labi samaisiet pilnīgo „CHANG Medium C”, virpinot pudeli.
4. Pievienojiet 10,0 ml/l (200 mM) L-glutamīna. Ja vēlams, var pievienot antibiotikas.

„CHANG MEDIUM C” PIEDEVAS DALĪŠANA ALIKVOTAJĀS DALĀS**Liofilizētā piedeva**

Ja pilnīgo „CHANG Medium C” nevarēsiet izmantot 10 dienās, iespējams, vēlētiesies sagatavot mazāku daudzumu, rīkojoties saskaņā ar šo pārveidototo procedūru.

1. Sagatavojet „CHANG Medium C” liofilizēto piedevu.
2. Aseptiskā veidā sadaliet piemērota lieluma alikvotajās daļās un sasaldējiet.
3. Aseptiskā veidā arī pamata „CHANG Medium B” sadaliet attiecīga skaita alikvotajās daļās.
4. Lai sagatavotu pilnīgo „CHANG Medium C”, vienu alikvoto daļu atkausētas „CHANG Medium C” piedevas pievienojiet vienai alikvotai daļai pamata „CHANG Medium B”.
5. Labi samaisiet.

Saldētā piedeva

1. Atkausējet „CHANG Medium C” saldēto piedevu.
2. Aseptiskā veidā sadaliet piemērota lieluma alikvotajās daļās un atkārtoti sasaldējiet. (PIEZĪME: flakons satur 14 ml vai 70 ml piedevas. Sadaliet vienādās daļās.)
3. Aseptiskā veidā arī pamata „CHANG Medium B” sadaliet attiecīga skaita alikvotajās daļās.
4. Lai sagatavotu pilnīgo „CHANG Medium C”, vienu alikvoto daļu atkausētas „CHANG Medium C” piedevas pievienojiet vienai alikvotai daļai pamata „CHANG Medium B”.
5. Labi samaisiet.

LIETOŠANAS NORĀDĪJUMI

KULTŪRU PAPILDINĀŠANAI IZMANTOTĀS BAROTNES pH JĀBŪT 6,8–7,2 (t. i., barotnei jābūt nedaudz iedzeltenā lašā krāsā). pH līmenis ir viegli pielāgojams, barotnes flakonu ar nedaudz valīgā uzlīktu aizbāzni ievietojot 5–8 % CO₂ inkubatorā.

Galīgajam pH līmenim jābūt 6,8–7,2.

Papildu informācija par šo produktu lietošanu meklējama katras laboratorijas procedūru aprakstos un protokolos, kas īpaši izstrādāti un optimizēti individuālajai medicīniskajai programmai.

„CHANG Medium C” 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 centrifugātā līdz 0,5 ml virs ūnu lodītes un atkārtoti suspendējiet. Koncentrētajai ūnu suspensijai pievienojiet pietiekamu daudzumu „CHANG Medium C”, lai iegūtu galīgo uzsēšanas daudzumu – 0,5 ml uz katru segstikliņu (pavisam 4 segstikliņi) vai 2 ml uz flakonu.
3. Netraucēti inkubējiet kultūras 37 °C temperatūrā 5 % CO₂ vidē.
4. 2. dienā uztupludiniet kultūras, pievienojot 2 ml „CHANG Medium C”.

5. Pēc 4–5 dienām jāpārbauda kultūru augšana. Tiklīdz novēro augšanu, kultūras jāpapildina. Papildinet kultūras, nonemot visu kultūras supernatantu un aizvietojot to ar 2 ml svaigas „CHANG Medium C”. Pēc tam ieteicams kultūras papildināt ik pēc 2 dienām.
6. 5. dienā/vai pēc tās pārbaudiet kultūru augšanu un, kad novēro pietiekama apjoma kolonijas, ievāciet ūnas.
7. Vislabākos rezultātus iegūst, ja kultūras papildina ar „CHANG Medium C” vienu dienu pirms ievāšanas.

„CHANG Medium C” lietošana primārajai kultivēšanai: flakona metodes

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

PIEZĪME: slēgtās sistēmās katru kultūras flakonu 20 sekundes skalojiet ar 5 % CO₂ un 95 % gaisa maišķumu. Kultūras flakoniem cieši uzlieciet aizbāžus un inkubējiet 37 °C temperatūrā. (CO₂ avotam ieteicams piestiprināt sterili Pastēra pipeti ar aizbāzni, lai nodrošinātu ieplūstošās gāzes sterilitāti.)

„CHANG Medium C” izmantošana pārsētu augļa ūdens ūnu audzēšanai

Lai pārbaudi ūnas, kultūras apstrādājiet ar tripsīnu (vai pronāzi u. c.), kā to parasti darītu, ja ūnas tiktu audzētas standarta barotnē. Tomēr apstrāde ar proteāzi rūpīgi jākontrolē. Barotnē „CHANG Medium C” audzētām augļa ūdens ūnām ir nosliece uz lielāku jutību pret apstrādi ar proteāzi nekā standarta barotnē audzētām augļa ūdens ūnām. Lai šo nemtu vērā, iespējams, jāpārveido protokols.

GLABĀŠANA UN STABILITĀTE

„CHANG Medium C” saldēto piedevu glabāt par –10 °C zemākā temperatūrā, „CHANG Medium C” liofilizēto piedevu glabāt 2–8 °C temperatūrā, pamata „CHANG Medium B” glabāt 2–8 °C temperatūrā, un pilnīgo „CHANG Medium C” glabāt 2–8 °C temperatūrā. Pamata „CHANG Medium B” nedrīkst sasaldēt.

Aizsargājiet no fluoresējošās gaismas.

Attiecīgos derīguma termiņus skaitlē atsevišķo sastāvdauļu pudeļu etiķetēs. Pilnīgo „CHANG Medium C” līdz lietošanai drīkst glabāt 2–8 °C temperatūrā 10 dienas, neietekmējot tās funkciju. Glabāt ilgāk par 10 dienām nav ieteicams.

NESASALDET PILNĪGO „CHANG MEDIUM C”.

PIESARDZĪBAS PASĀKUMI UN BRĪDINĀJUMI

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

„CHANG Medium C” sastāvdalās nelietot pēc derīguma termiņa, kas norādīts to etiķetēs.

INDICATIE VOOR GEBRUIK

CHANG Medium C kan worden gebruikt voor de volgende toepassing:

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

DIT MEDIUM IS BEDOELD VOOR GEBRUIK IN ZOWEL OPEN (KWEKEN DIE ZIJN GEÉQULIBREERD MET EEN 5% CO₂-ATMOSFEER) ALS GESLOTEN KWEEKSYSTEMEN (KWEKEN DIE VOLLEDIG BEDEKT ZIJN MET 5% CO₂ EN GEINCUBEERD IN GOED AFGESLOTEN KWEEKFLESSEN).

BESCHRIJVING VAN HET HULPMIDDEL

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

COMPONENTEN

<u>Zouten en ionen</u>	<u>Eiwitten, hormonen en groeifactoren</u>	pH-indicator
Natriumchloride	Fenolrood	
Natriumseleniet	Foetaal	Vitamineen
Calciumchloride	runderserum (FBS)	spoor elementen
Cholinechloride	Pasgeboren	Ascorbinezuur
Kaliumchloride	kalfsserum	Foliumzuur
Kaliumfosfaat	Menselijk	Nicotinamide
Magnesiumchloride	transferrine	Riboflavine
Magnesiumsulfaat	Fibroblast	Thiamine
Natriumfosfaat	groefactor (FGF)	Pantotheenzuur
Ferrofosfaat	Insuline	Cobalamine
Cuprisulfaat	Progesteron	Pyridoxaal
Zinksulfaat	Testosteron	Pyridoxine
Buffer	Béta-oestradiol	
Natriumbicarbonaat	Hydrocortison	
Aminozuren	Water	
Alanine	Farmaceutisch	
Arginine	kwaliteitswater	
Asparagine	(WFI)	
Asparaginezuur	Overige	
Cysteine	Hypoxanthine	
Cystine	Biotine	
Glutaminezuur	Putrescine	
Glutamine	Ethylalcohol	
Glycine	Antioxidant	
Histidine	Alfa-liponzuur	
Isoleucine	Nucleinezuuren	
Leucine	Deoxyadenosine	
Lysine	Deoxycytidine	
Methionine	Deoxyguanosine	
Fenyllalanine	Adenosine	
Proline	Cytidine	
Serine	Guanosine	
Treonine	Thymidine	
Tryptofaan	Uridine	
Tyrosine	Energie substraten	
Valine	Glucose	
	Pyruvaat	
	Inositol	

KWALITEITSBORGING**STERILITEIT**

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

VOORBEREIDING OP HET GEBRUIK**Gelyofiliseerd supplement**

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

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

Bevroren supplement

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

OPDELEN VAN CHANG MEDIUM C SUPPLEMENT**Gelyofiliseerd supplement**

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

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

Bevroren supplement

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

GEBRUIKSAANWIJZING

DE pH VAN HET MEDIUM DAT WORDT GEBRUIKT OM DE KWEEK 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 in een 5%-8% CO₂-incubator te plaatsen.

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

Voor aanvullende informatie over het gebruik van deze producten dienen alle laboratoria hun eigen laboratoriumprocedures en -protocollen te raadplegen die speciaal zijn ontwikkeld en geoptimaliseerd voor uw individueel medisch programma.

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

1. Centrifugeer het vruchtwater op lage snelheid om de cellen te concentreren.
2. 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 C aan de geconcentreerde celsuspensie toe tot een eindvolume van 0,5 ml per dekglaasje (4 dekglaasjes in totaal) of 2 ml per flesje is verkregen.
3. Zet de kweeken ongestoord in de incubator bij 37 °C en 5% CO₂-atmosfeer.
4. Bedek de kweeken op dag 2 volledig door 2 ml CHANG Medium C toe te voegen.

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

Gebruik van CHANG Medium C voor primaire kweeken: flesmethode

1. Centrifugeer het vruchtwater op lage snelheid om de cellen te concentreren.
2. 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 C toe tot een totaal volume van 5 ml per fles.
3. Zet de kweeken ongestoord in de incubator bij 37 °C en 5% CO₂-atmosfeer.
4. Controleer de groei op dag 5. Vervang het medium door vers CHANG Medium C en oogst als er voldoende celgroei is waargenomen.
5. Controleer daarna om de andere dag of de kweeken gegroeid zijn en vervang het medium volledig tot er voldoende koloniën worden waargenomen die kunnen worden geoogst.
6. De beste resultaten worden verkregen als de kweeken op de dag vóór het oogsten met CHANG Medium C worden gevoed.

NB: Spoel bij gesloten systemen elke kweekfles gedurende 20 seconden met 5% CO₂ - 95% lucht. Draai de doppen op de kweekflessen vast en incubeer bij 37 °C. (Aanbevolen wordt een steriele afgesloten pasteurpipet op de CO₂-bron aan te sluiten om de steriliteit van het instromende gas te garanderen.)

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

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

BEWAREN EN STABILITEIT

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

Bescherm tegen fluorescentielicht.

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

COMPLETE CHANG MEDIUM C NIET INVRIEZEN.

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

POLSKI

PRZEZNACZENIE

Pożywka CHANG Medium C może być używana do następujących zastosowań:

1. hodowli pierwotnej komórek płynu owodniowego
2. wzrostu pasażowanych komórek płynu owodniowego
3. hodowli komórek szpiku kostnego
4. litę tkankę owodniową z biopsji kosmków kosmówka TĘ POŻYWKĘ ZAPROJEKTOWANO DO UŻYTKU W SYSTEMACH HODOWLI OTWARTYCH (HODOWLE DOPROWADZONE DO RÓWNOWAGI W ATMOSFERZE 5% CO₂) I ZAMKNIĘTYCH (HODOWLE NAPEŁNIONE MIESZANINĄ Z 5% CO₂ I INKUBOWANE W SZCZELNEJ ZAMKNIĘTYCH NACZYNIACH HODOWLANYCH).

OPIS WYRÓBU

Pożywkę CHANG Medium C opracowano dla hodowli pierwotnych ludzkich komórek płynu owodniowego przeznaczonych do kariotypowania i wykonywania innych prenatalnych testów genetycznych. NIEJESZY SKŁAD ZOPTYMALIZOWANO DLA SYSTEMÓW HODOWLI OTWARTYCH I ZAMKNIĘTYCH.

SKŁADNIKI

Sole i jony	Białka, hormony i czynniki wzrostu	Wskaźnik pH
Chlorek sodu	Czterwień fenolowa	
Selenian sodu	Witaminy	
Chlorek wapnia	Lipiwastki	
Chlorek cholinu	śladowe	
Chlorek potasu	Kwas askorbinowy	
Fosforan potasu	cieląt	
Chlorek magnezu	Ludzka transferryna	
Siarczan magnezu	Czynniki wzrostu	
Fosforan sodu	fibroblastów (FGF)	
Siarczan zelaza	Insulina	
Siarczan miedzi	Progesteron	
Siarczan cynku	Testosteron	
Bufor	Beta-estradiol	
Wodorowęglan sodu	Hydrokortyzon	
Aminokwasy	Woda	
Alanina	Woda o jakości WF1	
Arginina	Inne	
Asparagina	Hipoksantyna	
Kwas asparaginowy	Biotyna	
Cysteina	Putrescyna	
Cystyna	Alkohol etylowy	
Kwas glutaminowy	Antyoksydant	
Glutamina	Kwas tioktanowy	
Glicyna	Kwasy nukleinowe	
Histydyna	Deoksadenozyna	
Isoleucyna	Deoksycytidyna	
Leucyna	Deoxysguanozyna	
Lizyna	Adenozyna	
Metionina	Cytidyyna	
Fenyloalanina	Guanozyna	
Prolina	Tymidyna	
Seryna	Uridyna	
Treonina	Substraty	
Tryptofan	energetyczne	
Tyrozyna	Glukoza	
Walina	Pirogronian	
	Inozytol	

ZAPEWNIANIE JAKOŚCI

STERYLNOŚĆ

Surowiec używany do produkcji dodatku CHANG Medium C 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 podstawową CHANG Medium B Basal i dodatek CHANG Medium C sterylizowano poprzez filtrację przez filtr o średnicy porów 0,1 mikrona. Reprezentatywne próbki pozywki podstawowej CHANG Medium B Basal i dodatku CHANG Medium C są poddawane testom pod kątem możliwego zanieczyszczenia bakteryjnego zgodnie z protokołem badania sterilityści opisanym w najnowszym badaniu sterilityści wg Farmakopei Amerykańskiej (USP) <71>.

PRZYGOTOWANIE DO UŻYCIA

Liofilizowany dodatek

1. Doprzewdzić liofilizowany dodatek CHANG Medium C do temperatury pokojowej.
2. Stosując technikę aseptyczną, dodać 10 ml lub 50 ml sterylniej wody destylowanej do liofilizatu. Fiolka o pojemności 10 ml jest przeznaczona dla 90 ml pozywki podstawowej CHANG Medium B Basal; fiołka o pojemności 50 ml jest przeznaczona dla

450 ml pozywki podstawowej CHANG Medium B Basal.

3. Delikatnie obracać fiolkę ruchem wirowym, aby uzyskać kompletny roztwór. (UWAGA: W celu całkowitego rozpuszczenia dodatku może być konieczne inkubowanie fiolki w temperaturze 37°C przez 5–10 minut.
4. Aseptycznie przenieść całą zawartość zrekonstytuowanego dodatku CHANG Medium C do butelki z pozywką podstawową CHANG Medium B Basal.
5. Dobrze wymieszać kompletną pozywkę CHANG Medium C, obracając butelkę ruchem wirowym.
6. Dodać L-glutaminę, 10,0 ml/l (200 mM). W razie potrzeby można dodać antybiotyki.

Zamrożony dodatek

1. Szybko rozmrzać zamrożony dodatek CHANG Medium C, obracając fiolkę ruchem wirowym w lażni wodnej nastawionej na temperaturę 37°C.
2. Aseptycznie przenieść całą zawartość rozmrzozonego dodatku CHANG Medium C do butelki z pozywką podstawową CHANG Medium B Basal.
3. Dobrze wymieszać kompletną pozywkę CHANG Medium C, obracając butelkę ruchem wirowym.
4. Dodać L-glutaminę, 10,0 ml/l (200 mM). W razie potrzeby można dodać antybiotyki.

ROZDZIELANIE DODATKU CHANG MEDIUM C NA PORCJE

Liofilizowany dodatek

Jeśli nie jest możliwe zużycie całej kompletnej pozywki CHANG Medium C w ciągu 10 dni, można przygotować mniejszą ilość pozywki, modyfikując procedurę w poniższy sposób:

1. Zrekonstytuować liofilizowany dodatek CHANG Medium C.
2. W sposób aseptyczny rozdzielić dodatek na porcję o odpowiednim rozmiarze, a następnie zamrozić.
3. W sposób aseptyczny rozdzielić również pozywkę podstawową CHANG Medium B Basal na odpowiednią liczbę porcji.
4. Aby przygotować kompletną pozywkę CHANG Medium C, dodać jedną porcję rozmrzozonego dodatku CHANG Medium C do jednej porcji pozywki podstawowej CHANG Medium B Basal.
5. Dobrze wymieszać.

Zamrożony dodatek

1. Rozmrzać zamrożony dodatek CHANG Medium C.
2. W sposób aseptyczny rozdzielić dodatek na porcję o odpowiednim rozmiarze, a następnie zamrozić ponownie. (UWAGA: Fiolka z dodatkiem zawiera roztwór o objętości 14 ml lub 70 ml. Rozdzielić po rozwinięciu).
3. W sposób aseptyczny rozdzielić również pozywkę podstawową CHANG Medium B Basal na odpowiednią liczbę porcji.
4. Aby przygotować kompletną pozywkę CHANG Medium C, dodać jedną porcję rozmrzozonego dodatku CHANG Medium C do jednej porcji pozywki podstawowej CHANG Medium B Basal.
5. Dobrze wymieszać.

INSTRUKCJA UŻYCIA

WARTOŚĆ pH POŻYWKI UŻYWANEJ DO ZASILANIA HODOWLI MUSI MIEŚCIĆ SIĘ W ZAKRESIE 6,8–7,2 (tzn. kolor pozywki musi być lekko żółtawo-lososiowy). Wartość pH może łatwo wyregułować, umieszczając pozywkę w butelce z lekko odkroconą zatyczką w inkubatorze z atmosferą 5%–8% CO₂.

Końcowa wartość pH musi wynosić 6,8–7,2. Szczegółowe informacje o wykorzystaniu tych produktów należy zweryfikować w wewnętrznych procedurach oraz protokołach laboratorium, które opracowano i zoptymalizowano pod kątem poszczególnych programów medycznych.

Stosowanie pozywki CHANG Medium C dla hodowli pierwotnych: Metody in situ

1. Odwrócić płyn owodniowy przy niskiej prędkości, aby zatrzymać komórki.
2. Zawiąsić osad komórkowy w malej objętości płynu owodniowego pacjentki. Na przykład zaaspirować nadzarcz z 10 ml odwróconego płynu owodniowego do 0,5 ml nad osadem komórkowym, a następnie

zawiąsić osad. Dodać wystarczającą ilość pozywki CHANG Medium C do zatrzyzionej zawiąsiny 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% CO₂, nie zakłócając ich.
4. W dniu 2. zalać hodowle, dodając 2 ml pozywki CHANG Medium C.
5. Po 4–5 dniach sprawdzić wzrost hodowli. Po zaobserwowaniu wzrostu należy zasilić hodowle pozywką. Zasilać hodowle pozywką, usuwając cały nadzarc hodowli i zastępując go 2 ml świeżej pozywki CHANG Medium C. Po wykonaniu tej czynności zalecane jest zasilanie hodowli pozywką 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 pozywką CHANG Medium C dzień przed zbiorami.

Stosowanie pozywki CHANG Medium C dla hodowli pierwotnych: metody hodowli w butelkach hodowlanych

1. Odwrócić płyn owodniowy przy niskiej prędkości, aby zatrzymać komórki.
2. Zawiąsić osad komórkowy w malej objętości płynu owodniowego pacjentki. Na przykład zaaspirować nadzarcz z 10 ml odwróconego płynu owodniowego do 1 ml nad osadem komórkowym, a następnie zawiąsić osad. Dodać 4 ml pozywki CHANG Medium C do całkowitej objętości równej 5 ml na butelkę.
3. Inkubować hodowle w temperaturze 37°C w atmosferze 5% CO₂, nie zakłócając ich.
4. Sprawdzić wzrost hodowli w 5. dniu. Zmienić pozywkę na świeżą pozywkę CHANG Medium C i zebrać komórki, jeśli zaobserwowano wystarczającą wzrost komórek.
5. Po wykonaniu tej czynności sprawdzić wzrost hodowli i co drugi dzień całkowicie wymieniać pozywkę do czasu zaobserwowania wystarczającej liczby kolonii gotowych do zbioru.
6. Najlepsze wyniki otrzymywano, gdy zasilano hodowle pozywką CHANG Medium C dzień przed zbiorami.

UWAGA: W przypadku systemów hodowli zamkniętych plukać każdą butelkę hodowlaną mieszaniną o składzie 5% CO₂ i 95% powietrza przez 20 sekund. Zakręcić zatrzaski butelek hodowlanych i inkubować butelki w temperaturze 37°C. (Aby zapewnić sterilityność wchodzącego gazu, zalecane jest przyłączenie sterylnej pipety Pasteura do źródła CO₂).

Stosowanie pozywki CHANG Medium C 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 pozywce standardowej. Jednakże należy ścisłe monitorować komórki poddawane działaniu proteazy. Komórki płynu owodniowego rosnące w pozywce CHANG Medium C zwykle są bardziej wrażliwe na działanie proteazy niż komórki płynu owodniowego rosnące w pozywce standardowej. W celu uwzględnienia tego faktu może być konieczne wprowadzenie zmian w protokole.

PRZECHOWYwanie i STABILNOŚĆ

Przechowywać zamrożony dodatek CHANG Medium C w temperaturze poniżej -10°C, liofilizowany dodatek CHANG Medium C w temperaturze od 2°C do 8°C, pozywkę podstawową CHANG Medium B Basal w temperaturze od 2°C do 8°C, a kompletną pozywkę CHANG Medium C w temperaturze od 2°C do 8°C. Nie należy zamrażać pozywki podstawowej CHANG Medium B Basal. Chronić przed światłem fluoresencyjnym.

Terminy ważności określono na etykietach butelek poszczególnych składników. Pozywkę Complete CHANG Medium C można przechowywać w temperaturze od 2°C do 8°C przez 10 dni bez negatywnego wpływu na jej działanie. Przechowywanie pozywki przez okres dłuższy niż 10 dni nie jest zalecane.

NIE ZAMRAŻAĆ KOMPLETNEJ POŻYWKI CHANG MEDIUM C.

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 używać składników pozywki CHANG Medium C po upływie terminu ważności podanego na poszczególnych etykietach.

INDICAȚIE DE UTILIZARE

CHANG Medium C se poate utiliza pentru următoarele întrebunțări:

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

ACEST MEDIU A FOST PROIECTAT PENTRU UTILIZARE ATÂT ÎN CULTURI DESCHESE (CULTURI ECHILIBRATE CU O ATMOSFERĂ DE CO₂ 5%), CÂT și ÎN SISTEME DE CULTURI ÎNCHISE (CULTURI INUNDATE CU CO₂ 5% și INCUBATE CU VASELE DE CULTURĂ ÎMBUTELIATE ERMETIC).

DESCRIEREA DISPOZITIVULUI

CHANG Medium C a fost realizat pentru cultura primară a celulelor din lichidul amniotic uman în vederea utilizării pentru cariotipare și alte teste genetice prenatale. ACEASTĂ FORMULĂ A FOST OPTIMIZATĂ ATÂT PENTRU SISTEME DESCHESE, CÂT și PENTRU SISTEME ÎNCHISE.

COMPONENTE

Săruri și ioni	Proteine, hormoni și factori de creștere	Indicator pH
Clorură de sodiu	Ser fetal bovin (SFB)	Rosu de fenol
Selenit de sodiu	Ser neonatal bovin	Vitamine și oligoelemente
Clorură de calciu	Transferină umană	Acid ascorbic
Clorură de colină	Factor de creștere a fibroblastilor (FCF)	Acid folic
Clorură de potasiu	Insulină	Nicotinamidă
Fosfat de potasiu	Progesteron	Riboflavină
Clorură de magneziu	Testosteron	Tiamină
Sulfat de magneziu	Beta-estradiol	Acid pantotenic
Fosfat de sodiu	Hidrocortizон	Cobalamină
Sulfat feros	Apa	Piridoxal
Sulfat de cupru	Calitate WFI (water for injection)	Piridoxină
Sulfat de zinc	[apă sterilă pentru injectii]	
Soluție tampon	Altil	
Bicarbonat de sodiu	Hipoxantină	
Aminocizici	Biotină	
Alanină	Putrescina	
Arginină	Alcool etilic	
Asparagină	Antioxidant	
Acid aspartic	Acid tiocic	
Cisteină	Acizi nucleici	
Cistină	Deoxiadenozină	
Acid glutamic	Deoxicitidină	
Glutamină	Deoxiguanozină	
Glicină	Adenozină	
Histidină	Citidină	
Izoleucină	Guanozină	
Leucină	Timidină	
Lizină	Uridină	
Metionină	Substraturi energetice	
Fenilalanină	Glucoză	
Prolină	Piruvat	
Serină	Inozitol	
Treonină		
Triptofan		
Tirozină		
Valină		

ASIGURAREA CALITĂȚII**STERILITATE**

Serul utilizat la producerea suplimentului CHANG Medium C a fost testat pentru a nu fi contaminat viral, în conformitate cu CFR Titlul 9 Partea 113.53. Aceasta a fost de asemenea analizată pentru detectarea contaminării cu mycoplasma. Atât CHANG Medium B Basal, cât și suplimentul CHANG Medium C sunt sterilizate prin filtrare printr-un filtru de 0,1 microni. Probe reprezentative de CHANG Medium B Basal și supliment CHANG Medium C 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 <7>.

PREGĂTIREA PENTRU UTILIZARE**Supliment liofilizat**

1. Lăsați suplimentul liofilizat CHANG Medium C să se echilibreze la temperatura camerei.
2. Folosind tehnici aseptice, adăugați 10 ml sau 50 ml de apă distilată sterilă la liofilizat. Fiola de 10 ml este pentru 90 ml de CHANG Medium B Basal; fiola de 50 ml este pentru 450 ml CHANG Medium B Basal.

3. Agitați ușor fiola pentru a realiza dizolvarea completă. (NOTĂ: Poate fi necesară incubarea fioliei la 37°C timp de 5 până la 10 minute pentru dizolvarea completă a suplimentului).
4. Transferați aseptic întregul conținut al suplimentului CHANG Medium C reconstituit în flaconul de CHANG Medium B Basal.
5. Amestecați bine CHANG Medium C complet prin agitarea flaconului.
6. Adăugați L-glutamină, 10,0 ml/l (200 mM). Dacă se dorește, se pot adăuga antibiotice.

Supliment congelat

1. Dezgehețați rapid suplimentul CHANG Medium C congelat prin agitarea fioliei într-o baie de apă la 37°C.
2. Transferați aseptic întregul conținut al suplimentului CHANG Medium C dezgehețat în flaconul de CHANG Medium B Basal.
3. Amestecați bine CHANG Medium C complet prin agitarea flaconului.
4. Adăugați L-glutamină, 10,0 ml/l (200 mM). Dacă se dorește, se pot adăuga antibiotice.

REPARTIZAREA SUPLEMENTULUI CHANG MEDIUM C ÎN PĂRȚI ALICOTE**Supliment liofilizat**

Dacă nu puteți utiliza CHANG Medium C complet în termen de 10 zile, puteți să realizați cantități mai mici urmând pașii acestei modificări de procedură:

1. Reconstituji suplimentul CHANG Medium C liofilizat.
2. Distribuiați aseptic în părți alicote de mărime convenabilă și congelează.
3. De asemenea, distribuiați CHANG Medium B Basal într-un număr corespunzător de părți alicote.
4. Pentru a prepara CHANG Medium C complet, adăugați o parte alicotă de supliment CHANG Medium C dezgehețat la o parte alicotă de CHANG Medium B Basal.
5. Amestecați bine.

Supliment congelat

1. Dezgehețați suplimentul CHANG Medium C congelat.
2. Distribuiați aseptic în părți alicote de mărime convenabilă și recongelează. (NOTĂ: Fiola de supliment conține 14 ml sau 70 ml. Distribuiați în mod egal.)
3. De asemenea, distribuiați CHANG Medium B Basal într-un număr corespunzător de părți alicote.
4. Pentru a prepara CHANG Medium C complet, adăugați o parte alicotă de supliment CHANG Medium C dezgehețat la o parte alicotă de CHANG Medium B Basal.
5. Amestecați bine.

INSTRUCȚIUNI DE UTILIZARE

pH-UL MEDIULUI UTILIZAT PENTRU HRĂNIREA CULTURILOR TREBUIE SĂ FIE CUPRINS ÎNTRE 6,8 și 7,2 (adică mediul trebuie să aibă o culoare ușor gălbuiu-somon). pH-ul poate fi ajustat cu ușurință punând mediul într-un incubator de 5%-8% CO₂ cu capacul ușor slabit.

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

Pentru detalii suplimentare privind folosirea acestor produse, fiecare laborator trebuie să își consulte propriile proceduri și protocoale de laborator, care au fost elaborate și optimizate special pentru programul dvs. medical individual.

Utilizarea CHANG Medium C pentru culturi primare: Metodologii in situ

1. Centrifugați lichidul amniotic la viteză redusă pentru a concentra celulele.
2. Resuspendați peletă cu celule într-un volum mic din propriul lichid amniotic al pacientei. De exemplu, aspirați supernatantul din 10 ml de lichid amniotic centrifugat la 0,5 ml deasupra peletei cu celule și resuspendați. Adăugați suficient CHANG Medium C la soluția de celule concentrată pentru a permite un volum de acoperire final de 0,5 ml per lamelă (în total 4 lamele) sau 2 ml per flaconă.
3. Incubați culturile fără a le agita la 37°C într-o atmosferă de CO₂ 5%.
4. Inundați culturile în ziua 2 prin adăugarea a 2 ml de CHANG Medium C.

5. După 4 sau 5 zile, culturile trebuie verificate pentru a se vedea dacă există creștere. Odată ce s-a observat creșterea, culturile trebuie hrănite. Hrăniți culturile prin îndepărțarea întregului supernatant al culturii și înlocuindu-l cu 2 ml de CHANG Medium C proaspăt. Se recomandă în continuare hrăirea 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 C în ziua anterioară recoltării.

Utilizarea CHANG Medium C pentru culturi primare: Metodologii cu flacon

1. Centrifugați lichidul amniotic la viteză redusă pentru a concentra celulele.
2. Resuspendați peletă cu celule într-un volum mic din propriul lichid amniotic al pacientei. De exemplu, aspirați supernatantul din 10 ml de lichid amniotic centrifugat la 1 ml deasupra peletei cu celule și resuspendați. Adăugați 4 ml de CHANG Medium C 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%.
4. Controlați dacă există creștere în ziua 5. Înlocuți mediul cu CHANG Medium C proaspăt și recoltați dacă se observă creșterea unui număr suficient de celule.
5. Controlați culturile pentru a vedea dacă există creștere și înlocuți în continuare complet mediul o dată la două zile 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 C în ziua anterioară recoltării.

NOTĂ: Pentru sisteme închise, clătiți fiecare flacon de cultură cu un amestec de 5% CO₂-95% aer timp de 20 secunde. Strângeți capacele flacoanelor de cultură și incubați-le la 37°C. (Se recomandă atașarea unei pipete Pasteur sterile astupate la sursa de CO₂ pentru a se asigura sterilitatea gazului care intră.).

Utilizarea CHANG Medium C 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 C 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.

DEPOZITARE ȘI STABILITATE

Depozitați suplimentul CHANG Medium C congelat la o temperatură sub -10°C, suplimentul CHANG Medium C liofilizat la o temperatură între 2°C și 8°C, CHANG Medium B Basal la o temperatură între 2°C și 8°C și CHANG Medium C complet la o temperatură între 2°C și 8°C. CHANG Medium B Basal nu trebuie congelat.

Protejați de lumina fluorescentă.

A se vedea etichetele de pe flacoanele componentelor individuale pentru datele de expirare specifice. CHANG Medium C complet poate fi depozitat la o temperatură între 2°C și 8°C timp de 10 zile înainte de utilizare fără a-i fi afectată funcția. Nu se recomandă depozitarea mai mult de 10 zile.

A NU SE CONGELA CHANG MEDIUM C COMPLET.

PRECAUȚII ȘI AVERTISMENTE

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

Nu utilizați componente CHANG Medium C după data de expirare indicată pe etichetele individuale.

INDIKATIONER

CHANG Medium C kan användas för följande tillämpningar:

1. primärodling av celler i amnionvätska
2. odling av celler från amnionvätska från passage
3. odling av benmärgsceller
4. fast amnionvävad från chorionvillibiopsi.

DETTA MEDIUM HAR UTVECKLATS FÖR ANVÄNDNING I BÅDE ÖPPNA (ODLINGAR EKVILIBRERADE I EN 5 % CO₂-ATMOSFÄR) OCH SLUTNA ODLINGSSYSTEM (ODLINGAR FLÖDADE MED 5 % CO₂ OCH INKUBERADE MED ODLINGS-KÄRLEN TÄTT FÖRSLUTNA).

PRODUKTBESKRIVNING

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

KOMPONENTER

Salter och joner	Proteiner, hormoner samt tillväxtfaktorer	pH-indikator
Natriumklorid	Fetalt bovint serum (FBS)	Fenolrött
Natriumselenit	Serum från nyfödda kalvar	Vitaminer och spärämnen
Kalciumklorid	Humant transferrin	Askorbinsyra
Kolinklorid	Fibroblasttillväxtfaktor (FGF)	Folsyra
Kaliumklorid	Insulin	Nikotinamid
Kaliumfosfat	Progesteron	Riboflavin
Magnesiumklorid	Testosteron	Tiamin
Magnesiumsulfat	Betaöstriadiol	Pantotsyra
Natriumfosfat	Hydrokortison	Pyridoxal
Ferroksulfat	Vatten	Pyridoxin
Koppersulfat	Vatten för injektion (WFI)	
Zinksulfat	Övrigt	
Buffert	Hypoxantin	
Natriumbikarbonat	Biotin	
Aminosyror	Putrescin	
Alanin	Etylkalkohol	
Arginin	Antioxidant	
Asparagin	Tioktinsyra	
Asparaginsyra	Nukleinsyror	
Cystein	Deoxyadenosin	
Cystin	Deoxycytidin	
Glutaminsyra	Deoxiguanosin	
Glutamin	Adenosin	
Glycin	Cytidin	
Histidin	Uridin	
Isoleucin	Energisubstrat	
Leucin	Glukos	
Lysin	Pyruvat	
Metionin	Inositol	
Fenylalanin		
Prolin		
Serin		
Treonin		
Tryptofan		
Tyrosin		
Valin		

KVALITETSSÄKRING**STERILITET**

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

BEREDNING FÖR ANVÄNDNING**Frystorkat supplement**

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

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

Fryst supplement

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

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

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

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

Fryst supplement

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

BRUKSANVISNING

pH I DET MEDIUM SOM ANVÄNDS SOM NÄRINGS-SUBSTRAT 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. Det slutliga pH-värdet måste vara 6,8–7,2.

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

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

1. Centrifugera amnionväskan på låg hastighet för att koncentrera cellerna.
2. Resuspendera cellpelleten i en liten volym av patientens egen amnionvätska. Aspirera t.ex. supernatanten från 10 ml centrifugerad amnionvätska till 0,5 ml ovanför cellpelleten och resuspendera. Tillsätt tillräckligt med CHANG Medium C till den koncentrerade celluspensionen för att möjliggöra en sluttig 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 % CO₂-atmosfär.
4. Flöda kulturerna på dag 2 genom att tillsätta 2 ml CHANG Medium C.
5. Efter 4–5 dagar bör kulturerna kontrolleras med avseende på växt. Närhet 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 C. Det rekommenderas att därefter tillföra näring till kulturerna varannan dag.

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

Användning av CHANG Medium C för primärkulturer: Metoder med flaska

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

ANM: För slutna system, flusha varje odlingsflaska med 5 % CO₂ – 95 % luft i 20 sekunder. Dra åt locken på odlingsflaskorna och inkubera dem vid 37 °C. (Det rekommenderas att en steril, pluggad pasteurpipett ansluts till CO₂-källan för att säkerställa den inkommende gasens sterilitet).

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

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

FÖRVARING OCH HÄLLBARHET

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

Skyddas mot fluorescerande ljus.

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

KOMPLETT CHANG MEDIUM C FÄR INTE FRYSAS.

FÖRSIKTIGHETSÄTGÄRDER OCH VARNINGAR

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

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

NÄIDUSTUS KASUTAMISEKS

Toodet CHANG Medium C võib kasutada järgmistel eesmärkidel.

1. Lootovedeliku rakkude primaarne kultuurimine
2. Tööstetud lootevedeliku rakkude kasvatamine
3. Luuüdi rakkude kultuurimine
4. Tahke lootekude koorioni hattude proovist
SEE SÖÖDE ON LOODUD KASUTAMISEKS NII AVATUD (5% CO₂ KESKKONNAS TASAKAALUSTATUD) KUI KA SULATATUD KULTUURIMISSÜSTEEMIDES (5% CO₂ ÜLE LOPUTATUD KULTUURID, MIDA INKUBÉERITAKSE TIHEDALT KORGISTATUD KULTUURIANUMATES).

SEADME KIRJELDUS

CHANG Medium C töötati välja inimese lootevedeliku rakkude primaarseks kultuurimiseks karüütüpimise ja muude sünneiselsete geneetiliste testide tegemise eesmärgil. KOOSTIS ON OPTIMEERITUD NII AVATUD KUI KA SULETUD SÜSTEEMIDE JAOKS.

OSAD

Soolad ja ioonid	Valgud, hormoonid ja kasvufaktorid	pH-indikaator
Naatriumkloriid	Fenoolpunane	Vitamiinid ja mikroelemendid
Naatriumseleniid	Veiseloote päritolu seerum (FBS)	Askorbiinhape
Kaltsiumkloriid	Vastusündinud veise päritolu seerum	Foolhape
Koliinikloriid	Inimese transferrini	Nikotiinamiid
Kaaliumprosfaat	Fibroplastide kasvufaktor (FGF)	Riboflaviin
Magneesiumikloriid	Insuliin	Tiamiin
Magneesiumsulfaat	Progesteroon	Pantoteenihape
Naatriumfosfaat	Testosteroon	Kobalamiin
Raudsulfaat	Beeta-östradiool	Püridoksaal
Vasksulfaat	Hüdrokortisoon	Püridoksiin
Tsinksulfaat	Vesi	
Puhver	WFI kvaliteet	
Naatrium-kesinikkarbonaat	Muu	
Aminohapped	Hüpoksantiin	
Alaniin	Biotiin	
Arginiin	Putrestsiin	
Asparagiin	Etüüalikohol	
Asparagiinhape	Antioksidant	
Tsüsteelin	Lipoehape	
Tsüstiin	Nukleiihaped	
Glutamiinhape	Deoksüadenosiin	
Glutamiin	Deoksütsütiin	
Glütsiin	Deoksüguanosiin	
Histidiin	Adenosiin	
Isoleutsiin	Tsütiin	
Leutsiin	Guanosiin	
Lüsiin	Tümidiiin	
Metioniin	Uridiin	
Fenüülalaniin	Energia substraadid	
Prolin	Glükoos	
Seriin	Püruvaat	
Treoniin	Inositol	
Trüptofaan		
Türosiin		
Valiin		

KVALITEEDI TAGAMINE**STERIILSUS**

CHANG Medium C lisandi tootmisel kasutatakse seerum on testimust viraalse saaste suhtes CFR ptk 9 osa 113.53 kohaselt. Samuti on seda testimust mükoplasma suhtes. Nii CHANG Medium B Basal kui ka CHANG Medium C lisand on steriliseeritud filtreerimise teel läbi 0,1-mikronise filtri. Toodete CHANG Medium B Basal ja CHANG Medium C lisandi esinduslike proove on bakterioloogilise saaste suhtes testimust steriilsuse katseprotokolli järgi, mida on kirjeldatud kehtivas USP steriilsustestis <71>.

ETTEVALMISTUSED KASUTAMISEKS**Lüofiliseeritud lisand**

1. Laske CHANG Medium C lüofiliseeritud lisandil toatemperatuurile jõuda.
2. Lisage lüofilisaadile aseptilist tehnikat kasutades 10 ml või 50 ml steriilsel destilleeritud vett. 10 ml viaal on 90 ml CHANG Medium B Basali jaoks; 50 ml viaal on 450 ml CHANG Medium B Basali jaoks.
3. Keerutage viaali õrnalt, et saada täielik lahus. (MÄRKUS. Võimalik, et viaali on vaja inkubeerida 37 °C 5–10 minutit, et lisandit täielikult lahustada).
4. Viige aseptilist tehnikat kasutades kogu manustamiskölblikuks muudetud CHANG Medium C lisand üle CHANG Medium B Basali pudelisse.
5. Segage CHANG Medium C korralikult läbi pudeli

keerutamise teel.

6. Lisage L-glutamiini, 10,0 ml/l (200 mM). Vajaduse korral võib lisada antibiootikume.

KÜLMUTATUD LISAND

1. Sulatage CHANG Medium C külmutatud lisand kiirelt, keerutades vialli 37 °C veevannis.
2. Viige aseptilist tehnikat kasutades kogu sulatatum CHANG Medium C lisand üle CHANG Medium B Basali pudelisse.
3. Segage CHANG Medium C korralikult läbi pudeli keerutamise teel.
4. Lisage L-glutamiini, 10,0 ml/l (200 mM). Vajaduse korral võib lisada antibiootikume.

CHANG MEDIUM C LISANDI**ALIKVOOTIMINE****Lüofiliseeritud lisand**

Kui teil ei õnnestu täielikku CHANG Medium C-d 10 päeva jooksul ära kasutada, võite valmistada väiksemad kogused, järgides järgmist modifitseerimisprotseduuri.

1. Muutke manustamiskölblikuks CHANG Medium C lüofiliseeritud lisand.
2. Jaotage aseptiliselt sobiva suurusega alikvootideks ja külmutage.
3. Aseptilist tehnikat kasutades jaotage vastavasse arvu alikvootideks ka CHANG Medium B Basal.
4. Täieliku CHANG Medium C valmistamiseks lisage üks alikvoott sulatatum CHANG Medium C lisandit ühele alikvoodele CHANG Medium B Basalile.
5. Segage hästi läbi.

KÜLMUTATUD LISAND

1. Sulatage CHANG Medium C külmutatud lisand.
2. Jaotage aseptiliselt sobiva suurusega alikvootideks ja külmutage uesti. (MÄRKUS. Lisandi vialal sisalduv 14 ml või 70 ml. Jaotage võrdsest.)

3. Aseptilist tehnikat kasutades jaotage vastavasse arvu alikvootideks ka CHANG Medium B Basal.
4. Täieliku CHANG Medium C valmistamiseks lisage üks alikvoott sulatatum CHANG Medium C lisandit ühele alikvoodele CHANG Medium B Basalile.
5. Segage hästi läbi.

KASUTUSJUHEND

KULTUURIDE TOITMISEKS KASUTATAVA SÖÖTME PH PEAB OLEMA 6,8–7,2 (st sööde peab olema kergelt kollakasroosa). pH-d on lihtne reguleerida, asetades söötme 5–8% CO₂ inkubaatorisse, kork veidi lahti. pH lõppnäit peab olema 6,8–7,2.

Lisateabe saamiseks nende toodete kasutamise kohta peavad laborid tutvuma oma protseduuri ja protokollidega, mis on välja töötatud ja optimeeritud spetsiaalselt nende individuaalse meditsiiniprogrammi jaoks.

Toote CHANG Medium C kasutamine primaarkultuuride puhul: in situ metodoloogiad

1. Tsentrifuugige lootevedelikku väiksel kirusel, et rakke kontsentreerida.
2. Resuspenderige rakupellet vähuses patsiendi enda lootevees. Näiteks võite aspireerida 10 ml tsentrifuugitud lootevedeliku supernatanti 0,5 ml võrra rakupelleti kohale ja resuspenderida. Lisage kontsentreeritud rakuSuspensionile piisavalt toodet CHANG Medium C, 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% CO₂ keskkonnas.
4. 2. päeval katke kultuurid üle 2 ml tootega CHANG Medium C.
5. 4–5 päeva järel tuleb kontrollida kultuuride kasvu. Kasvu tuvastamisel tuleb kultuure toita. Toitke kultuure, eemaldades kogu kultuuri supernatandi ja asendades selle 2 ml värske CHANG Medium C-ga. Seejärel on soovitatav kultuure toita iga 2 päeva järel.
6. Kontrollige kultuuride kasvu 5. päeval või pärast seda ning koguge, kui tuvastate piisavat kolooniad.
7. Parimad tulemused saavutatakse kultuuride toitmisel tootega CHANG Medium C üks päev enne kogumist.

Toote CHANG Medium C kasutamine primaarkultuuride puhul: rakupudeli metodoloogiad

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

MÄRKUS. Suletud süsteemides loputage igat kultuuripudelit 5% CO₂ – 95% õhuga 20 sekundit. Keerake kultuuripudelite kork kinni ja inkubeerige 37 °C. (CO₂ allika külge on soovitatav kinnitada steriilne Pasteuri pipett, et tagada sissetuleva gaasi steriilsus.).

Toote CHANG Medium C kasutamine tööstetud lootevedeliku rakkude kasvatamiseks:

Rakkude töstmiseks töödelge kultuure trüpsiiniga (või pronaasiga vms) nagu tavapärasel rakkude kasvatamisel tavalises söötmes. Proteasiga töötlemist tuleb hoolikalt jälgida. CHANG Medium C-s kasvatatud lootevedeliku rakud kipuvad olema proteasitoötluste suhtes tundlikumad kui tavapärases söötmes kasvatatud lootevedeliku rakud. Sellega arvestamiseks tuleb võib-olla muuta protokoli.

SÄILITAMINE JA STABIILSUS

Hoidke CHANG Medium C külmutatud lisandit temperatuuril alla –10 °C, CHANG Medium C lüofiliseeritud lisandit 2–8 °C, CHANG Medium B Basalit 2–8 °C ja täielikku CHANG Medium C-d 2–8 °C. Toodet CHANG Medium B Basal ei tohi külmutada.

Kaitseks fluorescentsvälguse eest.

Aegumiskuupäeva vaadake komponendipudelite etikettidel. Täielikku CHANG Medium C-d võib säilitada temperatuuril 2–8 °C 10 päeva, ilma et see mõjutaks selle funktsiooni. Toodet ei ole soovitatav säilitada üle 10 päeva.

ÄRGE KÜLMUTAGE TOODET COMPLETE CHANG MEDIUM C.

ETTEVAATUSABINÖUD JA HOIATUSED

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

Ärge kasutage toote CHANG Medium C komponente pärast toote etiketil näidatud aegumiskuupäeva.

MAGYAR

FELHASZNÁLÁSI JAVALLATOK

A CHANG Medium C a következőkre használható:
1. az amniotikus folyadék sejtjeinek elsődleges tenyészítése;
2. az amniotikus folyadék passzált sejtjeinek növeztése;
3. csontvelősejtek tenyészítése;
4. szilárd amnionszövet mintavételezése chorionbolykokból.

EZT A MÉDIUMOT NYITOTT (5%-OS CO₂-ATMOSZFÉRÁVAL EKVILIBRÁLT TENYÉSZETEK) ÉS ZÁRT TENYÉSZTŐRENDSZERÉKBEN (5%-OS CO₂-VEL ELÁRASZTOTT ÉS SZOROSAN LEZÁRT TENYÉSZTŐEDÉNYEKBEN INKUBÁLT TENYÉSZETEK) TÖRTÉNŐ HASZNÁLATRA IS TERVEZTÉK.

TERMÉKSMERTETÉS

A CHANG Medium C a humán amniotikus folyadék sejtjeinek elsődleges tenyészítésére lett kifejlesztve, kariotípus meghatározásához és más antenális genetikai vizsgálatokhoz. AZ ÖSSZETÉTELÉT NYITOTT ÉS ZÁRT RENDSZEREKHEZ IS OPTIMALIZÁLTÁK.

ÖSSZETEVOHK

Sók és ionok	Fehérjék, hormonok	Energiaszubsztrátok
Nátrium-klorid	Glükóz	
Nátrium-szelénium	faktorok	Piruvát
Kalcium-klorid	Magzati	Inozitol
Kolin-klorid	szarvasmarha	phi-indikátor
Kálium-klorid	sérum (fetal bovine serum, FBS)	Fenolvörös Vitaminok és nyomelemek
Kálium-foszfát	Ujszülött	
Magnézium-klorid	szarvasmarha	Aszkorbinsav
Magnézium-szulfát	sérum	Folsav
Nátrium-foszfát	Humán transzferrin	Nikotinamid
Vas-szulfát	Fibroblaszt	Riboflavin
Réz-szulfát	növekedési faktor	Tiamin
Cink-szulfát	(fibroblast growth factor, FGF)	Pantoténsav
Puffer	Inzulin	Kobalamin
Nátrium-bikarbonát	Progeszteron	Piridoxál
Aminosavak	Tesztoszteron	Piridoxin
Alanin	Béta-össztradiol	
Arginin	Hidrokortizon	
Aszparagin	Víz	
Aszparaginsav	Injekcióhoz való minőségű víz	
Cisztein	Egyéb	
Cisztein	Hipoxantin	
Glutaminsav	Biotin	
Glutamin	Putreszin	
Glicin	Etil-alkohol	
Histidin	Antioxidáns	
Isoleucin	Tioktánsv	
Leucin	Nukleinsavak	
Lizin	Dezoxi-adenoszin	
Metionin	Dezoxi-citidin	
Fenilalanin	Dezoxi-guanozin	
Prolin	Adenoszin	
Szerin	Citidin	
Treonin	Guanozin	
Triptofán	Timidin	
Tirozin		
Valin		

MINŐSÉGBIZTOSÍTÁS

STERILITÁS

A CHANG Medium C Supplement előállításához használt szérum vírusszennyeződését a CFR 9. címének 113.53 része szerint vizsgálták. A médium mikoplazmaszennyeződését is megvizsgálták. A CHANG Medium B Basal és a CHANG Medium C Supplement sterilizálása is 0,1 mikronos szürőn át történő szűrésrel történt. A CHANG Medium B Basal és a CHANG Medium C Supplement reprezentatív mintáit a jelenlegi Amerikai Gyógyszerkönyv sterilitási vizsgálatában <7> leírt sterilításvizsgálati protokollok követével tesztelik a lehetséges baktériológiai szennyeződésre.

ELŐKEZSÍTÉS A FELHASZNÁLÁSRÁ

Liofilizált kiegészítő készítmény

- Hagyja szabóhóméréskéleten egyensúlyba kerülni a CHANG Medium C Lyophilized Supplement készítményt.
- Aszpirátor technikát alkalmazva adjon 10 ml vagy 50 ml steril desztillált vizet a liofilizátmuhoz. A 10 ml-es fiola a 90 ml-es CHANG Medium B Basal médiumhoz, az 50 ml-es fiola a 450 ml-es CHANG Medium B Basal készítményhez tartozik.
- A teljes feloldódáshoz óvatatosan forgassa a fiolát.

(MEGJEGYZÉS: Előfordulhat, hogy a fiolat 37 °C-on 5–10 percig inkubálni kell a kiegészítő készítmény teljes feloldásához.)

- Aszterikusan tegye át a feloldott CHANG Medium C Supplement teljes tartalmát a CHANG Medium B Basal üvegébe.
- Keverje össze alaposan a teljes CHANG Medium C médiumot az üveg forgatásával.
- Adjon hozzá 10,0 ml/l (200 mM) L-glutamint. Szükség esetén hozzáadhat antibiotikumot.

Fagyaszott kiegészítő készítmény

- Olvassa fel gyorsan a CHANG Medium C Frozen Supplement készítményt a fiola 37 °C-os vízfürdőben történő forgatásával.
- Aszterikusan tegye át a felolvasztott CHANG Medium C Supplement teljes tartalmát a CHANG Medium B Basal üvegébe.
- Keverje össze alaposan a teljes CHANG Medium C médiumot az üveg forgatásával.
- Adjon hozzá 10,0 ml/l (200 mM) L-glutamint. Szükség esetén hozzáadhat antibiotikumot.

A CHANG MEDIUM C SUPPLEMENT SZÉTOSZTÁSA

Liofilizált kiegészítő készítmény

- Ha 10 napon belül nem tudja felhasználni a teljes CHANG Medium C médiumot, érdemes lehet kisebb mennyiségekbe osztani az eljárás módosítását követve:
- Oldja fel a CHANG Medium C Lyophilized Supplement készítményt.
 - Aszterikusan ossza a kívánt méretű alikvotakra, és fagyassza le.
 - A CHANG Medium B Basal készítményt is ossza aszterikusan ugyanennyi számú alikvotra.
 - A teljes CHANG Medium C médium elkészítéséhez adjon egy alikvot felolvasztott CHANG Medium C Supplement készítményt egy alikvot CHANG Medium B Basal készítményhez.
 - Keverje össze alaposan.

Fagyaszott kiegészítő készítmény

- Olvassa fel a CHANG Medium C Frozen Supplement készítményt.
- Aszterikusan ossza a kívánt méretű alikvotakra, és fagyassza le újra. (MEGJEGYZÉS: A kiegészítő készítményt tartalmazó fiola 14 ml-t vagy 70 ml-t tartalmaz. Ossza egyenlőre részre.)
- A CHANG Medium B Basal készítményt is ossza aszterikusan ugyanennyi számú alikvotra.
- A teljes CHANG Medium C médium elkészítéséhez adjon egy alikvot felolvasztott CHANG Medium C Supplement készítményt egy alikvot CHANG Medium B Basal készítményhez.
- Keverje össze alaposan.

HASZNÁLATI UTASÍTÁS

A TENYÉSZTEK TÁPLÁLÁSÁRA SZOLGÁLÓ MÉDIUM pH-ÉRTÉKÉNEK 6,8 és 7,2 KÖZÖTT KELL LENNIE (azaz a médiumnak enyhén sárgás-lazacszínűnek kell lennie). A pH könnyen beállítható úgy, hogy a médiumot 5–8%-os CO₂-inkubátorba teszi, enyhén meglazított kupakkal.

A végzős pH-értékek 6,8 és 7,2 között kell lennie. A termékek használatakor vonatkozó további részletekéről minden laboratóriumnak a saját laboratóriumi eljárásait és protokolljait kell figyelembe vennie, amelyeket specifikusan a saját orvosi programjukhoz hoztak létre és optimalizáltak.

A CHANG MEDIUM C FELHASZNÁLÁSA AZ AMNIOTIKUS FOLYADÉK PASSZÁLT SEJTJEINEK NÖVESETÉSHÉZ:

- A sejtek passzálásához kezelje a tenyészeteket tripszinnel (vagy pronázzal stb.), ahogyan tenné abban az esetben, ha a sejtek hagyományos médiumban növekednének. A proteázkezelést azonban gondosan ellenőrizni kell. Az amniotikus folyadék CHANG Medium C médiumban növekvő sejtjei általában érzékenyebbek a proteázkezelésre, mint a hagyományos médiumban növekvő sejtek. Ennek figyelembevételéhez szükséges lehet a protokoll módosítása.
- #### TÁROLÁS ÉS STABILITÁS
- A CHANG Medium C Frozen Supplement készítményt -10 °C alatti hőmérsékleten, a CHANG Medium C Lyophilized Supplement készítményt 2 °C és 8 °C között, a CHANG Medium B Basal készítményt 2 °C és 8 °C között, a Complete CHANG Medium C médiumot 2 °C és 8 °C között tárolja. A CHANG Medium B Basal készítményt tilos fagyasszani.

Védje a fluoreszcens fénytől.

Az adott lejáratú dátumokra vonatkozóan lásd az egyes összetevők üvegén található címkéket. A Complete

CHANG Medium C 2 °C és 8 °C közötti hőmérsékleten 10 napig tárolható a használat előtt anélkül, hogy ez befolyásolná a funkcióját. 10 napnál hosszabb ideig tartó tárolás nem ajánlott.

NE FAGYASSZA LE A COMPLETE CHANG MEDIUM C MÉDIUMOT.

ÓVINTÉZKEDÉSEK ÉS FIGYELMEZTETÉSEK

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

Ne használja a CHANG Medium C összetevőit az egyes címkékben feltüntetett lejáratú időn túl.

LITUVIŲ K.

NAUDOJIMO INDIKACIJA

„CHANG Medium C“ terpė galima naudoti šioms paskirtims:

1. amniono skysčio ląstelių pirminei kultūrai;
2. auginant perkeltas amniono skysčio ląsteles;
3. kaulų čiuþų ląstelių kultūrai;
4. tviro amniono audiniui, gautam paþemus chorioniniu išsaugu (gaureliu) mèginius.

ŠI TERPĖ YRA SKIRTA NAUDOTI ATVIROSE (KULTŪROS STABILIZUOTOS 5 % CO₂ ATMOSFEROJE) IR UŽDAROSE KULTŪRŲ SISTEMÖSE (KULTŪROS APSEMSTOS 5 % CO₂ IR LAIKOMOS INKUBATORIUJE PATIKIMAI UŽDARIUS KULTŪRŲ INDUS).

ITAISO APRAÝMAS

„CHANG Medium C“ terpė buvo sukurta žmogaus amniono skysčio ląstelių pirminei kultūrai ir yra skirta naudoti atliekant kariotipavimą ir kita prenatalinę genetinę tyrimą. ŠI FORMULÉ BUVO OPTIMIZUOTA NAUDOTI ATVIROMS IR UŽDAROMS SISTEMOMAS.

SUDEDAMOSIOS DALYS

Druskos ir Jonai	Baltymai, hormonai ir augimo faktoriai	Energetiniai substratai
Natrio chloridas	Jauðio embronio krauso serumas (FBS)	Glukozé Piruvatas Inozitolis
Natrio selenitas	Jauðio naujagimio krauso serumas	pH indikatorius
Kalcio chloridas	Žmogaus transferinas	Fenolio raudonasis mikroelementai
Cholino chloridas	Fibroblasto augimo faktorius (FGF)	Askorbo rûgtis Folio rûgtis Nitokatinamidas
Kalio chloridas	Insulinas	Riboflavinas
Kalio fosfatas	Progesteronas	Tiaminas Pantoteninė rûgtis
Magnio chloridas	Testosteronas	Beta estradiolis Hidrokortizonas Vanduo
Magnio sulfatas	Beta estradiolis	Kobalaminas
Natrio fosfatas	Hidrokortizonas	Piridoksalis
Geležies sulfatas	Injekcinio vandens kokybë	Piridoksinas
Vario sulfatas	Kita	
Cinko sulfatas	Hipoksantinas	
Buferonis tîrpalas	Biotinas	
Natrio bikarbonatas	Putrescinas	
Amino rûgtys	Etilo alkoholis	
Alaninas	Antioksidantas	
Argininas	Lipo rûgtis	
Asparaginas	Nukleino rûgtys	
Asparto rûgtis	Deoksidiadenozinas	
Cisteinas	Deoksitidinas	
Cistinas	Dezoksiguanozinas	
Glutamo rûgtis	Adenosininas	
Glutaminas	Citidinas	
Glicinas	Guanozinas	
Histidinas	Timidinas	
Izoleucinas	Uridinas	
Leucinas		
Lizinas		
Metioninas		
Fenilalaninas		
Prolinas		
Serinas		
Treoninas		
Triptofanas		
Tirozinas		
Valinas		

KOKYBËS UŽTIKRINIMAS

STERILUMAS

„CHANG Medium C“ papildo gamyboje naudotas serumas buvo patikrintas dël uþteršimo virusais pagal CFR 9 antraštinę dalį, 113.53 dalį. Jis taip pat buvo patikrintas, ar nera mikoplazmos uþteršimo. „CHANG Medium B Basal“ ir „CHANG Medium C“ papildas yra sterilizuoti filtruojant per 0,1 mikronų filtru. „CHANG Medium B Basal“ ir „CHANG Medium C“ papido tipiniai mèginiai yra ištiðriami dël galimo uþteršimo bakterijomis, laikantis sterilumo tyrimo protokolo, kuris apibûdintas pagal šiuo metu patvirtintą Jungtinių Valstijų farmakopejos sterilumo testą <71>.

PARUOSIMAS NAUDOTI

Liofilizuotas papildas

1. Palikite „CHANG Medium C“ liofilizuotą papildą pastovéti, kol taps kambario temperatûro.
2. Taikydami aseptinius metodus, į liofilizatą pridékite 10 arba 50 ml sterilaus distiliuoto vandens. 10 ml flakonas yra skirtas 90 ml „CHANG Medium B Basal“, 50 ml flakonas – 450 ml „CHANG Medium B Basal“.
3. Švelniai pasukinékite flakoną, kad tirpalas susimaiþytų. (PASTABA. Flakoną gali reikiéti palaikyti inkubatoriuje 37 °C temperatûroje 5–10 minuþių, kad papildas visiškai ištrptu.)
4. Perkelkite visą atskiesto „CHANG Medium C“ papido turinį į „CHANG Medium B Basal“ buteliuką, taikydami aseptinius metodus.
5. Sukdami buteliuką gerai sumaiþykite „CHANG

Medium C“.

6. Pridékite L-glutamino – 10,0 ml/l (200 mM). Jei pageidaujama, galima pridéti antibiotikų.

Šuþaldytas papildas

1. Atþildykite „CHANG Medium C“ suþaldytą papildą, greitai sukdami flakoną 37 °C temperatûros vandens voneléje.
2. Perkelkite visą atþildyto „CHANG Medium C“ papildo turinį į „CHANG Medium B Basal“ buteliuką, taikydami aseptinius metodus.
3. Sukdami buteliuką gerai sumaiþykite „CHANG Medium C“.
4. Pridékite L-glutamino – 10,0 ml/l (200 mM). Jei pageidaujama, galima pridéti antibiotikų.

„CHANG MEDIUM C“ PRIEDO DALIJIMAS I PORCIJAS

Liofilizuotas papildas

Jei per 10 dienų sunaudosite ne visa „CHANG Medium C“ terpė, galite pasigaminti maþesnius jos kiekius, laikydami šios modifikuotos procedûros:

1. Atskieskite „CHANG Medium C“ liofilizuotą papildą.
2. Aseptiskai paskirstykite į patogaus naudoti dydžio alikvotines dalis ir uþþaldykite.
3. Aseptiskai padalykite „CHANG Medium B Basal“ į atitinkamą alikvotiniu daliu skaiþi.
4. Norédami paruošti „CHANG Medium C“, vieną atþildyto „CHANG Medium C“ papildo alikvotinę dalį dékite į vieną „CHANG Medium B Basal“ alikvotinę dalį.
5. Gerai sumaiþykite.

Šuþaldytas papildas

1. Atþildykite „CHANG Medium C“ suþaldytą papildą.
2. Aseptiskai paskirstykite į patogaus naudoti dydžio alikvotines dalis ir pakartotinai uþþaldykite. (PASTABA. Papildo flakonas yra 14 arba 70 ml tûro. Tolygiai paskirstykite.)
3. Aseptiskai padalykite „CHANG Medium B Basal“ į atitinkamą alikvotiniu daliu skaiþi.
4. Norédami paruošti „CHANG Medium C“, vieną atþildyto „CHANG Medium C“ papildo alikvotinę dalį dékite į vieną „CHANG Medium B Basal“ alikvotinę dalį.
5. Gerai sumaiþykite.

NAUDOJIMO NURODYMAI

KULTŪROMS MAITINTI NAUDOJAMOS TERPÉS pH TURI BÜTI 6,8–7,2 (t. y. terpė turi būti gelsvos laišinės spalvos). pH galima lengvai pakoreguoti įdedant terpę į 5–8 % CO₂ inkubatoriui, siek tiek atsukus dangtelį. Galutinis pH turi būti 6,8–7,2.

Išsamnesi šių produktų naudojimo gairių kiekviena laboratorija turi ieškoti savo vidaus darbo tarkos taisykléje ir metodiniuose nurodymuose, specialiai parengtuose ir optimizuotuose pagal atskiruos medicininës programos nuostatas.

„CHANG Medium C“ terpés naudojimas pirminéms ląstelių kultūroms: in situ metodai

1. Centrifuguokite amniono skysti nedideliu greiciu, kad koncentruotuméte ląstelės.
2. Resuspenduokite ląstelės granulę nedideliamie kiekje pacientés amniono skysčio. Pavyzdžiu, siurbkite 10 ml supernatanto iš centrifuguoto amniono skysčio, palikdami 0,5 ml virš ląstelės granulės, ir resuspenduokite. Pakankamai kiekj „CHANG Medium C“ terpés įlašinkite į koncentruotą ląstelių suspensiją, kad bûtų pasiekta galutinis lėkstelės tûris – 0,5 ml vienam dengiamajam stikleliui (iš viso – 4 dengiamieji stikleliai) arba 2 ml vienai flasketei.
3. Kultûras netrukdomai inkubuokite 37 °C temperatûroje 5 % CO₂ atmosferoje.
4. 2-ają dieną apsemkite kultûras, pridëdami 2 ml „CHANG Medium C“ terpés.
5. Po 4–5 dienų kultûras reikia patikrinti, ar auga. Pastebéjus, kad kultûros auga, jas reikia maitinti. Maitinkite kultûras paþalindami visą kultûros paviršinį sluoksnį ir pakeisdami terpę į 2 ml šviežios „CHANG Medium C“ terpés. Véliau rekomenduojama kultûras maitinti kas 2 dienas.

6. 5-ą dieną arba po 5 dienų patikrinkite kultûrą augimą ir aptikę pakankamai kolonių ląstelės surinkite.

7. Geriausią rezultatą pasiekiamą kultûras maitinant „CHANG Medium C“ terpę, likus dienai iki kultûrų émimo.

„CHANG Medium C“ terpés naudojimas pirminéms ląstelių kultûroms: Kolbos metodologijos

1. Centrifuguokite amniono skysti nedideliu greiciu, kad koncentruotuméte ląstelės.
2. Resuspenduokite ląstelės granulę nedideliamie kiekje pacientés amniono skysčio. Pavyzdžiu, siurbkite 10 ml supernatanto iš centrifuguoto amniono skysčio, palikdami 1 ml virš ląstelės granulės, ir resuspenduokite. Iþpilkite 4 ml „CHANG Medium C“ terpés, kad kiekvienoje kolboje bûtu po 5 ml.
3. Kultûras netrukdomai inkubuokite 37 °C temperatûroje 5 % CO₂ atmosferoje.
4. 5-ają dieną patikrinkite augimą. Pakeiskite terpę šviežią „CHANG Medium C“ terpę ir imkite kultûras, jei pastebéjote, kad užaugo pakankamai ląstelės.
5. Po to kas antrą dieną patikrinę kultûrų augimą visiškai pakeiskite terpę, kol bus priaugusių pakankamai kolonių, kurias galima surinkti.
6. Geriausią rezultatą pasiekiamą kultûras maitinant „CHANG Medium C“ terpę, likus dienai iki kultûrų émimo.

PASTABA. Kultuvuodami uždarosiøe sistemose, kiekvieną pasélio flakoneli 20 sekundžių eksponuokite 5 % CO₂ ir 95 % oro mišiniu. Sandariai prisukę dangtelius, flakonelius su kultûromis inkubuokite 37 °C temperatûroje. (Rekomenduojama prie CO₂ šaltinio prijungti steriliþ Pastero pipetę su kamštuku, užtikrinant įeinančių duju steriliumą.)

„CHANG Medium C“ terpés naudojimas auginant perkeltas amniono skysčio ląstelės

Norédami perkelti ląstelės, apdrokite kultûras tripsinu (arba pronusas ir pan.), kaip iþprasta auginant ląstelės iþprastinéje terpëje. Taicau proteazés procedûrą reikia atidžiai stebéti. „CHANG Medium C“ terpëje uþaugintos amniono skysčio ląstelės yra jautresnës proteazés procedûrui nei amniono skysčio ląstelės, uþaugintos iþprastinéje terpëje. Gali prieikti pakeisti protokolą, kad galéatuméte atsiþvelgti į šį faktą.

LAIKYMAS IR STABILUMAS

„CHANG Medium C“ suþaldytą papildą laikykite žemesnéje kaip –10 °C temperatûroje, „CHANG Medium C“ liofilizuotą papildą – 2–8 °C temperatûroje, „CHANG Medium B Basal“ – 2–8 °C temperatûroje, o visą „CHANG Medium C“ – 2–8 °C temperatûroje. „CHANG Medium B Basal“ negalima uþþaldyti.

Saugoti nuo fluorescencinių spindulių. Konkrečios galiojimo pabaigos datos ieškokite individualių sudedamuþ dalių etiketëse. Visą „CHANG Medium C“ galima laikyti 2–8 °C temperatûroje 10 dienų – per šį laiką, jos savybës nepakinta. Nerekomenduojama laikyti ilgiu kaip 10 dienų. NEŠALDYKITE VISOS „CHANG MEDIUM C“.

ATSARGUMO PRIEMONËS IR ISPËJIMAI

Ši priemonë yra skirta naudoti darbuotojams, išmokytiems atliki procedûras, susijusias su priemonës taikymu pagal numatyta paskirtį.

Nenaudokite „CHANG Medium C“ sudedamuþ dalių pasibaigus etiketëse nurodytai galiojimo pabaigos datai.

TÜRKÇE

KULLANIM ENDİKASYONU

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

BU VASAT HEM AÇIK (%5 CO₂ ATMOSFERİNDE DENGELENMİŞ KÜLTÜRLER) HEM KAPALI (%5 CO₂ DOLDURULMUŞ VE KÜLTÜR KAPAĞI SIKICA KAPATILMIŞ OLARAK İNKÜBE EDİLMİŞ KÜLTÜRLER) KÜLTÜR SİSTEMLERİYLE KULLANILMAK ÜZERE TASARLANMIŞTIR.

CİHAZ TANIMI

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

BİLEŞENLER

Tuzlar ve İyonlar	Proteinler	pH Göstergesi
Sodyum Klorür	Hormonlar ve Büyüme Faktörleri	Fenol kırmızısı
Sodyum Selenit	Fetal sığır serumu (FSS)	Vitaminler ve eser elemanlar
Kalsiyum Klorür	Yenidoğan sığır serumu	Askorbik asit
Kolin Klorür	İnsan transferrini	Folik asit
Potasium Klorür	Fibroblast büyümeye faktörü (FGF)	Nikotinamid
Potasium Fosfat	İnsulin	Riboflavin
Magnezyum Klorür	Progesteron	Tiamin
Magnezyum Sulfat	Testosteron	Pantotenik asit
Sodyum Fosfat	Beta estradiol	Kobalamin
Ferröz Sulfat	Hidrokortizon	Piridoksal
Kuprik Sulfat	Su	Piridoksin
Cinko Sulfat	Enjeksiyonluk Su Kalitesi	
Tampon	Düğer	
Sodyum Bikarbonat	Hipoksantin	
Amino Asitler	Biyotin	
Alanin	Putresin	
Arjinin	Etil alkol	
Asparajin	Antioksidan	
Aspartik Asit	Tiyotik asit	
Sistein	Nükleik asitler	
Sistin	Deoksiadenozin	
Glutamik Asit	Deoksisitidin	
Glutamin	Deoksiguanozin	
Glisin	Adenozin	
Histidin	Sitidin	
Izolösin	Guanozin	
Lösin	Timidin	
Lizin	Üridin	
Metiyonin	Enerji Substratları	
Fenilalanin	Glukoz	
Prolin	Piruvat	
Serin	Inositol	

KALİTE GÜVENCE

STERİLİTE

CHANG Medium C üretiminde kullanılan serum, CFR Başlık 9 Kısım 113.53 uyarınca viral kontaminasyon için test edilmiştir. Ayrıca mikoplazma kontaminasyonu için taranmıştır. CHANG Medium B Basal ve CHANG Medium C Takviyesi 0,1 mikron bir filtreden filtrasyon yoluyla sterilize edilmiştir. CHANG Medium B Basal ve CHANG Medium C Takviye temsili örnekleri mevcut USP sterilité testi <71> içinde tanımlanan sterilité testi protokolü izlenerek olası bakteriyolojik kontaminasyon açısından test edilir.

KULLANIM HAZIRLIĞI

Liyofilize Takviye

1. CHANG Medium C Liyofilize Takviye ürününün oda sıcaklığına dengelenmesini bekleyin.
2. Aseptik teknikler kullanarak liyofilizata 10 mL veya 50 mL steril distile su ekleyin. 10 mL flakon 90 mL CHANG Medium B Basal ürünü içindir; 50 mL flakon 450 mL CHANG Medium B Basal ürünü içindir.
3. Tüm solüsyonu etkilemek üzere yavaşa çevirin. (NOT: Takviyeyi tamamen çözmem için flakonu 37°C'de 5 - 10 dakika inkübe etmek gerekebilir).
4. Sulandırılmış CHANG Medium C Takviye ürününün tüm içeriğini CHANG Medium B Basal şişesi içine aseptik olarak aktarın.

5. Complete CHANG Medium C ürününe şişeyi çevirerek içine karıştırın.
6. L-Glutamin, 10,0 mL/L (200 mM) ekleyin. İstenirse antibiyotikler eklenebilir.

Dondurulmuş Takviye

1. CHANG Medium C Dondurulmuş Takviye ürününü flakonu bir 37°C su banyosunda çevirerek hızla çözün.
2. Özünmüş CHANG Medium C Takviye ürününün tüm içeriğini CHANG Medium B Basal şişesi içine aseptik olarak aktarın.
3. Complete CHANG Medium C ürününe şişeyi çevirerek içine karıştırın.
4. L-Glutamin, 10,0 mL/L (200 mM) ekleyin. İstenirse antibiyotikler eklenebilir.

CHANG MEDIUM C TAKVIYE

ALİKOTLAMA

Liyofilize Takviye

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

1. CHANG Medium C Liyofilize Takviye ürününü sulandırın.
2. Uygun büyüklükte alikotlara aseptik olarak dağıtın ve dondurun.
3. Ayrıca CHANG Medium B Basal ürününe karşılık gelen sayıda alikota aseptik olarak verin.
4. Complete CHANG Medium C hazırlamak için bir alikot çözülmüş CHANG Medium C Takviye ürünü bir alikot CHANG Medium B Basal ürününe ekleyin.
5. İyice karıştırın.

Dondurulmuş Takviye

1. CHANG Medium C Dondurulmuş Takviye ürününü çözün.
2. Uygun büyüklükte alikotlara aseptik olarak dağıtın ve tekrar dondurun. (NOT: Takviye flakonu 14 mL veya 70 mL içerir. Eşit olarak dağıtın.)
3. Ayrıca CHANG Medium B Basal ürününe karşılık gelen sayıda alikota aseptik olarak verin.
4. Complete CHANG Medium C hazırlamak için bir alikot çözülmüş CHANG Medium C Takviye ürünü bir alikot CHANG Medium B Basal ürününe ekleyin.
5. İyice karıştırın.

KULLANMA TALİMATI

KÜLTÜRLERİ BESLEMEK İÇİN KULLANILAN VASATIN pH DEĞERİ 6,8 - 7,2 OLMALIDIR (yani vasat hafif sarımı pembe olmuşlardır). pH, vasati kapağı hafifçe gevsetilmiş olarak bir %5 - %8 CO₂ inkübatoriye koymak kolayca ayarlanabilir.

Son pH 6,8 - 7,2 olmalıdır.

Bu ürünlerin kullanımı hakkında ek ayrıntılar açısından her laboratuvar kendi ayrı tıbbi programınız için özel olarak geliştirilmiş ve optimize edilmiş, kendi laboratuvar işlemleri ve protokollerine başvurmalıdır.

Primer Kültürler için CHANG Medium C Kullanımı: *İn Situ* Metodolojiler

1. Hücreleri konsantr etmek için amniyotik sıvayı düşük hızda santrifüjleyin.
2. Hücre pelletini hastanın kendi amniyotik sıvısının küçük bir miktarında tekrar süspansiyon haline getirin. Örneğin santrifüjenmiş 10 mL amniyotik sıvısının süpernatmasını hücre pelletinin 0,5 mL üzerine kadar aspire edin ve tekrar süspansiyon haline getirin. Konsantr hücre süspansiyonuna lamel başına 0,5 mL (toplam 4 lamel) veya flasket başına 2 mL olacak şekilde son plakalama hacmini mümkün kılınca üzere yeterli CHANG Medium C ekleyin.
3. Kültürleri ellemeden 37°C %5 CO₂ atmosferi altında inkübe edin.
4. Kültürleri gün 2'de 2 mL CHANG Medium C ekleyerek tamamen sıvıyla örtün.
5. Kültürlerin 4 - 5 günden sonra üreme açısından kontrol edilmesi gereki. Kültürleri üreme gözleştikten sonra beslenmelidir. Kültürleri tüm kültür süpernatmasını alıp yerine 2 mL yeni CHANG Medium C koymak besleyin. Bundan sonra kültürlerin 2 günde bir beslenmesi önerilir.
6. Kültürleri 5. günde veya sonrasında üreme için kontrol edin ve yeterli koloni gözleme toplayın.
7. En iyi sonuçlar kültürlerin toplama öncesi günde CHANG Medium C ile beslenmesiyle alınır.

Primer Kültürler için CHANG Medium C Kullanımı: Flask Metodolojileri

1. Hücreleri konsantr etmek için amniyotik sıvayı düşük hızda santrifüjleyin.
2. Hücre pelletini hastanın kendi amniyotik sıvısının küçük bir miktarında tekrar süspansiyon haline getirin. Örneğin santrifüjenmiş 10 mL amniyotik sıvısının süpernatmasını hücre pelletinin 1 mL üzerine kadar aspire edin ve tekrar süspansiyon haline getirin. Flask başına toplam 5 mL hacim için 4 mL CHANG Medium C ekleyin.
3. Kültürleri ellemeden 37°C %5 CO₂ atmosferi altında inkübe edin.
4. Gün 5'te üreme için kontrol edin. Vasatı yeni CHANG Medium C ile değiştirin ve yeterli hücre üremesi gözleme toplayın.
5. Kültürlerin üreme durumunu kontrol edin ve bundan sonra yeterli koloni gözleme toplamaya hazır olana kadar iki günde bir vasatı tamamen değiştirin.
6. En iyi sonuçlar kültürlerin toplama öncesi günde CHANG Medium C ile beslenmesiyle alınır.

NOT: Kapalı sistemler için her kültür flaskından 20 saniye boyunca %5 CO₂ - %95 hava geçirin. Kültür flasklarının kapaklarını sıkın ve 37°C'de inkübe edin. (Gelen gazın sterilitesini sağlamak üzere CO₂ kaynağına steril tıkaçı bir Pasteur pipetinin takılması önerilir).

Pasaj Yapılmış Amniyotik Sıvı Hücrelerini Büyütmek için CHANG Medium C kullanımı:

Hücre pasajı yapmak için kültürlerle, hücreler geleneksel vasatta üretilidine normalde yapacağınız gibi tripsin (veya Pronase vs.) muamelesi yapın. Ancak proteaz tedavisi dikkatle izlenmelidir. Amniyotik sıvı hücreleri CHANG Medium C içinde büyütüldüğünde geleneksel vasatta büyütülenlere göre proteaz tedavisine daha duyarlı olma eğilimindedir. Protokolünüzü bunu hesaba alacak şekilde değiştirmek gerekebilir.

SAKLAMA VE STABİLİTE

CHANG Medium C Dondurulmuş Takviye ürünü -10°C altında, CHANG Medium C Liyofilize Takviye ürünü 2°C ile 8°C arasında, CHANG Medium B Basal ürünü 2°C ile 8°C arasında ve Complete CHANG Medium C ürünü 2°C ile 8°C arasında saklayın. CHANG Medium B Basal dondurulmamalıdır.

Floresan ışıkları koruyun.

Spesifik son kullanma tarihleri için ayrı bileşen şivesi etiketlerine bakınız. Complete CHANG Medium C işlevi etkilenmeden kullanım öncesi 2°C - 8°C arasında 10 gün boyunca saklanabilir. 10 günden fazla saklama önerilmez.

COMPLETE CHANG MEDIUM C ÜRÜNÜNDÜ DONDURMAYIN.

ÖNLEMLER VE UYARILAR

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

CHANG Medium C bileşenlerini ayrı etiketlerde belirtilen son kullanma tarihinden sonra kullanmayın.

INDIKÁCIA NA POUŽITIE

CHANG Medium C možno použiť na nasledujúce aplikácie:

1. primárnu kultiváciu buniek plodovej vody
2. rast pasážovaných buniek plodovej vody
3. kultiváciu buniek kostnej drene
4. vzorkovanie pevného zárodočného tkaniva z choriových klkov.

TOTO MÉDIUM BOLO NAVRHUTÉ NA POUŽITIE V OTVORENÝCH (KULTÚRACH USTÁLENÝCH S ATMOSFÉROU 5 % CO₂) AJ ZATVORENÝCH KULTIVAČNÝCH SYSTÉMOCH (KULTÚRACH ZALIATÝCH 5 % CO₂ A INKUBOVANÝCH S TESNE UZAVRETÝMI KULTIVAČNÝMI NÁDOBAMI).

POPIS ZARIADENIA

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

ZLOŽKY

Soli a ióny	Bielkoviny, hormóny a rastové faktory	Indikátor pH
chlorid sodný	fetálne bovinné sérum (FBS)	fenolová červeň
seleňičitan sodný	neonatálne bovinné sérum	Vitaminy a stopové prvky
chlorid vápenatý	ľudský transferín	kyselina askorbová
cholín vápenatý	fibroblastový rastový faktor (FGF)	kyselina listová
chlorid draselný	inzulín	nikotinamid
fosforečnan	progesterón	riboflavín
draselný	testosterón	tiamín
chlorid horečnatý	beta estradiol	kyselina pantoténová
síran horečnatý	hydrokortizón	kobalamín
fosfát sodný	Voda	pyridoxal
síran železnatý	qualita vody na injekciu	pyridoxin
síran meďnatý	Iné	
síran zinečnatý	hypoxantín	
Pufer	biotín	
hydrogenuhličitan sodný	putrescín	
Aminokyseliny	etylalkohol	
alanín	Antioxidant	
arginín	kyselina tioktová	
asparagín	Nukleové kyseliny	
kyselina asparágová	deoxyadenozín	
cysteín	deoxycytidín	
cystín	deoxyguanozín	
kyselina glutámová	adenozín	
glutamín	cytidín	
glycin	guanozin	
histidín	tymidín	
izoleucín	uridín	
leucín	Energetické substráty	
lyzin	glukóza	
metionín	pyruvát	
fenylalanín	inositol	
prolín		
serín		
treonín		
tryptofán		
tyrozín		
valín		

KONTROLA KVALITY**STERILITA**

Sérum použité pri výrobe CHANG Medium C Supplement bolo testované na vírusovú kontamináciu podľa CFR, kapitoly 9, časti 113.53. Podstúpilo tiež skríning na mykoplasmatickú kontamináciu. CHANG Medium B Basal aj CHANG Medium C Supplement sú sterilizované filtriaciou cez 0,1-mikrónový filter. Reprezentatívne vzorky CHANG Medium B Basal aj CHANG Medium C Supplement sú testované na možnú bakteriologickú kontamináciu podľa protokolu na testovanie sterility popísaného v aktuálnom teste sterility USP<71>.

PRÍPRAVA NA POUŽITIE**Lyofilizovaný doplnok**

1. Lyofilizovaný doplnok CHANG Medium C nechajte vytemperovať na izbovú teplotu.
2. Pomocou aseptických techník pridajte 10 ml alebo 50 ml sterilnej destilovanej vody do lyofilizátu. 10 ml skúmavku je na 90 ml CHANG Medium B Basal, 50 ml skúmavku je na 450 ml CHANG Medium B Basal.
3. Skúmavku jemne zavíre, aby sa vytvoril kompletný roztok. (POZNÁMKA: Je možné, že skúmavku bude potrebné inkubovať pri teplote 37 °C 5 až 10 minút, aby sa doplnok úplne rozpustil.)

4. Celý obsah rekonštituovaného CHANG Medium C Supplement asepticke preneste do fľaše s CHANG Medium B Basal.
5. Kompletné CHANG Medium C dobre pomiešajte vŕtením fľaše.
6. Pridajte L-glutamín, 10,0 ml/l (200 mM). Ak chcete, možno pridať antibiotiká.

Zmrazený doplnok

1. Zrazený doplnok CHANG Medium C rýchlo rozmrazte vŕtením skúmavky vo vodnom kúpeli pri teplote 37 °C.
2. Celý obsah rozmrazeného CHANG Medium C Supplement asepticke preneste do fľaše s CHANG Medium B Basal.
3. Kompletné CHANG Medium C dobre pomiešajte vŕtením fľaše.
4. Pridajte L-glutamín, 10,0 ml/l (200 mM). Ak chcete, možno pridať antibiotiká.

ALIKVOTOVANIE CHANG MEDIUM C SUPPLEMENT**Lyofilizovaný doplnok**

Ak nemôžete použiť kompletné CHANG Medium C do 10 dní, môžete si pripraviť menšie množstvá takouto modifikáciou postupu:

1. Rekonštituujte lyofilizovaný doplnok CHANG Medium C.
2. Asepticke ho distribuujujte do alikvót vhodnej veľkosti a zmrazte.
3. CHANG Medium B Basal tiež asepticke nadávkujte do príslušného počtu alikvót.
4. Na prípravu kompletného CHANG Medium C pridajte jednu alikvótu rozmrazeného CHANG Medium C Supplement do jednej alikvóty s CHANG Medium B Basal.
5. Dobre zamiešajte.

Zmrazený doplnok

1. Rozmrazte zmrazený doplnok CHANG Medium C.
2. Asepticke ho distribuujujte do alikvót vhodnej veľkosti a znova zmrazte. (POZNÁMKA: Skúmavka s doplnkom obsahuje 14 ml alebo 70 ml. Distribuuje rovnomerne.)
3. CHANG Medium B Basal tiež asepticke nadávkujte do príslušného počtu alikvót.
4. Na prípravu kompletného CHANG Medium C pridajte jednu alikvótu rozmrazeného CHANG Medium C Supplement do jednej alikvóty s CHANG Medium B Basal.
5. Dobre zamiešajte.

NÁVOD NA POUŽITIE

pH MÉDIA POUŽITÉHO NA ŽIVENIE KULTÚR MUSÍ BYŤ MEDZI 6,8 – 7,2 (t. j. médium musí mať mierne žltososovú farbu). pH možno jednoducho upraviť vložením média do inkubátora s 5 % – 8 % CO₂ s mierne uvoľneným vrchnákom.

Výsledné pH musí byť 6,8 – 7,2.

Ďalšie podrobnosti o použití týchto produktov by malo každé laboratórium čerpať zo svojich vlastných laboratórnych postupov a protokolov, ktorí boli špecificky vypracované a optimalizované pre váš individuálny medicínsky program.

Použitie CHANG Medium C na primárne kultúry: Metodiky in situ

1. Plodovú vodu odstredte pri nízkej rýchlosťi, aby sa koncentrovali bunky.
2. 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 C do koncentrovanej bunkovej suspenzie, aby sa vytvoril konečný plátovací objem 0,5 ml na každé krytie sklíčko (celkom 4 krytie sklíčka) alebo 2 ml na každú fľaštičku.
3. Nerušené kultúry inkubujte pri teplote 37 °C v atmosfére 5 % CO₂.
4. Druhý deň zalejte kultúry pridaním 2 ml CHANG Medium C.

5. Po 4 až 5 dňoch skontrolujte rast na kultúrah.

Kultúry treba priziviť, keď sa spozoruje rast. Kultúry prizívate odstránením všetkého supernatantu kultúry a pridaním 2 ml čerstvého CHANG Medium C. Potom sa odporúča kultúry priziviť každé 2 dni.

6. Rast na kultúrah skontrolujte okolo 5. dňa a vykonajte zber, keď spozorujete dostatočné kolónie.

7. Najlepšie výsledky sa dosiahnu, keď sú kultúry prizivené CHANG Medium C deň pred zberom.

Použitie CHANG Medium C na primárne kultúry: Metodiky fľaštičiek

1. Plodovú vodu odstredte pri nízkej rýchlosťi, aby sa koncentrovali bunky.
2. Bunkovú peletu resuspendujte v malom objeme plodovej vody pacientky. Napríklad aspirujte supernatant 10 ml odstredenej plodovej vody na 1 ml nad bunkovú peletu a resuspendujte. Pridajte 4 ml CHANG Medium C na konečný objem 5 ml na fľaštičku.
3. Nerušené kultúry inkubujte pri teplote 37 °C v atmosfére 5 % CO₂.
4. Skontrolujte rast na 5. deň. Ak pozorujete dostatočný rast buniek, vymeňte médium za čerstvé CHANG Medium C a vykonajte zber.
5. Skontrolujte rast na kultúrah a potom kompletné vymenjajte médium každý druhý deň dovtedy, kým nepozorujete dostatočné kolónie a nie sú prípravené na zber.
6. Najlepšie výsledky sa dosiahnu, keď sú kultúry prizivené CHANG Medium C deň pred zberom.

POZNÁMKA: Pri zatvorených systémoch vypláchnite každú fľaštičku na kultúru 5 % CO₂ – 95 % vzduchom 20 sekúnd. Utiahnite vrchnáky na fľaštičkách s kultúrou a inkubujte ich pri teplote 37 °C. (Odporúča sa, aby bola k zdroju CO₂ pripevnená sterilná zazátkovaná Pasteurova pipeta, aby sa zaistila sterilita prívodu plynu.)

Použitie CHANG Medium C na rast pasážovaných buniek plodovej vody:

Na pasážovanie buniek osérite kultúry trypsinom (alebo pronázov atď.) ako obvykle, keď sa bunky pestujú v konvenčnom médiu. Ošetroenie pronázou vás treba pozorne sledovať. Bunky plodovej vody vystepované v CHANG Medium C sú zvyčajne citlivé na ošetroenie pronázou, než bunky plodovej vody vystepované v konvenčnom médiu. Preto môže byť potrebné upraviť vás protokol a vziať to do úvahy.

UCHOVÁVANIE A STABILITA

Zrazený doplnok CHANG Medium C uchovávajte pri teplote pod -10 °C, lyofilizovaný doplnok CHANG Medium C pri teplote 2 °C až 8 °C, CHANG Medium B Basal pri teplote 2 °C až 8 °C, a kompletné CHANG Medium C pri teplote 2 °C až 8 °C. CHANG Medium B Basal sa nesmie zmrzovať.

Chráňte pred fluorescenčným svetlom.

Špecifické dátumy exspirácie nájdete na označeniach jednotlivých fľaš komponentov. Kompletné CHANG Medium C možno uchovávať pri teplote 2 °C až 8 °C 10 dní pred použitím bez ovplyvnenia jeho funkcie. Uchovávanie dlhšie než 10 dní sa neodporúča.

KOMPLETNÉ CHANG MEDIUM C NEZMRAZUJTE.

BEZPEČNOSTNÉ OPATRENIA**A VAROVANIA**

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

Komponenty CHANG Medium C nepoužívajte po dátume exspirácie uvedenom na jednotlivých označeniach.

БЪЛГАРСКИ

ПОКАЗАНИЯ ЗА УПОТРЕБА

CHANG Medium C може да се използва за следните приложения:

1. Първична култура на клетки от амниотична течност,
2. Раствраща пасажни клетки от амниотична течност,
3. Култура на клетки на костен мозък,
4. Търсеща амнионна тъкан от проба на хорионин въси.

ТАЗИ СРЕДА Е ПРЕДНАЗНАЧЕНА ЗА ИЗПОЛЗВАНЕ

КАКТО В ОТВОРЕНИ (КУЛТУРИ, ЕКВИЛИБРИРАНИ

С 5% CO₂, АТМОСФЕРА), ТАКА И В ЗАТВОРЕНИ

СИСТЕМИ ЗА КУЛТУРИ (КУЛТУРИ, ЗАЛЕТИ

С 5% CO₂ И ИНКУБИРАНИ С ПЛЪТНО ЗАТВОРЕНИ

СЪДОВЕЩА НА КУЛТУРИ).

ОПИСАНИЕ НА ИЗДЕЛИЕТО

CHANG Medium C е разработена за първично

култивиране на клетки от човешка амниотична

течност използвана при картилизиране и други

пренатални генетични тестове. ТАЗИ ФОРМУЛА

Е ОПТИМИЗИРАНА КАКТО ЗА ОТВОРЕНИ, ТАКА

И ЗА ЗАТВОРЕНИ СИСТЕМИ.

КОМПОНЕНТИ

Соли и йони	Протеини, хормони и растежни фактори	Енергийни субстрати
Натриев хлорид		Гликоза
Натриев селеният		Пиуроват
Калиев хлорид	Фетален говеждя серум (FBS)	Инозитол
Холин хлорид	Говежди серум на новородено	pH индикатор
Калиев хлорид		Фенол, червен
Калиев фосфат		Витамини и микроелементи
Магнезиев хлорид		Аскорбинова киселина
Магнезиев сулфат	трансферин	Фолиева киселина
Натриев фосфат	Фибробластен растежен фактор (FGF)	Никотинамид
Железен сулфат		Рибофлавин
Меден сулфат		Тиамин
Цинков сулфат		Пантотенова киселина
Буфер		Кобаламин
Натриев бикарбонат		Пиридоксал
Аминокиселини		Пиридоксин
Аланин		
Аргинин		
Аспарагин		
Аспартигнова киселина		
Цистеин		
Цистин		
Глутаминова киселина		
Глутамин		
Глицин		
Хистидин		
Изолецин		
Изолецин		
Лизин		
Метионин		
Фенилаланин		
Пролин		
Серин		
Треонин		
Триптопан		
Тирозин		
Валин		

КОНТРОЛ НА КАЧЕСТВОТО

СТЕРИЛНОСТ

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

ПОДГОТОВКА ЗА УПОТРЕБА

Лиофилизиран суплемент

1. Оставете лиофилизирана суплемент CHANG Medium C да се еквилибира на стайна температура.
2. Чрез асептичен метод добавете 10 ml или 50 ml стерилина дестилирана вода към лиофилизата.

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

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

Замразен суплемент

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

АЛИКВОТИРАНЕ НА CHANG MEDIUM C SUPPLEMENT

Лиофилизиран суплемент

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

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

Замразен суплемент

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

УКАЗАНИЯ ЗА УПОТРЕБА

НИВОТО на pH на СРЕДАТА, ИЗПОЛЗВАНА ЗА ХРАНЕНЕ НА КУЛТУРИТЕ, ТРЯБВА ДА Е МЕЖДУ 6,8 и 7,2 (т.е. средата трябва да е с леко жълтен-карово-оранжев цвят). Ниво на pH може лесно да се регулира чрез поставяне на средата в 5% – 8% CO₂ инкубатор с леко разхлабена капачка.

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

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

ИЗПОЛЗВАНЕ НА CHANG MEDIUM C ЗА ПЪРВИЧНИ КУЛТУРИ: Методология in situ

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

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

3. Инкубрайте културите в покой при 37° C, 5% CO₂ атмосфера.
4. В ден 2 залейте културите, като добавите 2 ml CHANG Medium C.

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

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

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

ИЗПОЛЗВАНЕ НА CHANG MEDIUM C ЗА ПЪРВИЧНИ КУЛТУРИ: Методология със слайд-флакон

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

3. Инкубрайте културите в покой при 37° C, 5% CO₂ атмосфера.

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

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

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

ЗАБЕЛЕЖКА: За затворени системи промийте всеки слайд-флакон с култури с 5% CO₂ – 95% въздух за 20 секунди. Затегнете капачките на слайд-флаконите с култури и ги инкубрайте при 37° C. (Препоръчва се да се прикрият стерилна запушена пилета тип Пастьор към източника на CO₂, за да се осигури стерилност на входящия газ.)

ИЗПОЛЗВАНЕ НА CHANG MEDIUM C ЗА РАСТЕЖ НА ПАСАЖНИ КЛЕТКИ ОТ АМНИОТИЧНА ТЕЧНОСТ:

За пасаж на клетките третирайте културите с 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, растващи в CHANG Medium C, показват тенденция да са по-чувствителни към третиране с протеаза от клетките от амниотична течност, растващи в конвенционална среда. Може да е необходимо да модифицирате своя протокол, за да вземете това предвид.

СЪХРАНЕНИЕ И СТАБИЛНОСТ

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

Пазете от флуоресцента светлина.

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

НЕ ЗАМРАМЯВАЙТЕ ПЪЛНАТА СРЕДА CHANG MEDIUM C.

ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ И ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

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

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

INDIKACIJE ZA UPOTREBU

CHANG Medium C može se upotrebljavati za sljedeće primjene:

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

OVAJ MEDIJ OSMIŠLJEN JE ZA UPOTREBU U OTVORENIM (KULTURE URAVNOTEŽENE ATMOSFEROM OD 5 % CO₂) I ZATVORENIM SUSTAVIMA KULTURA (KULTURE NATOPLJENE S 5 % CO₂ I INKUBIRANE U ČVRSTO ZATVORENIM POSUDAMA).

OPIS PROIZVODA

CHANG Medium C razvijen je za uzgoj primarne kulture stanica ljudske amnijske tekućine u svrhu kariotipizacije i drugih prenatalnih genetskih testiranja. OVA FORMULA OPTIMIRANA JE ZA OTVORENE I ZATVORENE SUSTAVE.

KOMPONENTE

<u>Soli i ioni</u>	<u>Proteini, hormoni i čimbenici rasta</u>	<u>pH indikator</u>
Natrijev klorid	Fetalni govedi serum (FBS)	Fenol crveno
Natrijev selenit	Serum novorođene teladi	Vitamini i elementi u trgovinama
Kalcijev klorid	Humani transferin	Aksorbinska kiselina
Kolinijev klorid	Fibroblastni čimbenik rasta (FGF)	Folna kiselina
Kalijev klorid	Inzulin	Nikotinamid
Kalijev fosfat	Progesteron	Riboflavin
Magnezijev klorid	Testosteron	Tijamin
Magnezijev sulfat	Beta estradiol	Pantotenska kiselina
Natrijev fosfat	Hidrokortizон	Kobalamin
Željezov sulfat	Voda	Piridoksal
Bakrov sulfat	Kvaliteta u skladu s propisanom za vodu za injekcije	Piridoksin
Cinkov sulfat	Ostalo	
<u>Pufer</u>	Hipoksantin	
Natrijev hidrogenkarbonat	Biotin	
<u>Aminokeline</u>	Putrescin	
Alanin	Etilni alkohol	
Arginin	Antioksidans	
Asparagin	Lipočna kiselina	
Aspartatna kiselina	Nukleinske kiseline	
Cistein	Deoksiadenozin	
Cistin	Deokscicitidin	
Glutamatna kiselina	Deoksigvanozin	
Glutamin	Adenozin	
Glicin	Citidin	
Histidin	Gvanozin	
Izoleucin	Timidin	
Leucin	Uridin	
Lizin	<u>Energetski supstrati</u>	
Metionin	Glukoza	
Fenilalanin	Piruvat	
Prolin	Inozitol	
Serin		
Treonin		
Triptofan		
Tirozin		
Valin		

OSIGURANJE KVALITETE**STERILNOST**

Serum koji se koristi za proizvodnju proizvoda CHANG Medium C Supplement testiran je na kontaminaciju virusima u skladu sa Zakonom o saveznim propisima SAD-a (CFR), Glava 9., dio 113.53. Uz to, testiran je i na kontaminaciju mikoplazmom. Proizvodi CHANG Medium B Basal i CHANG Medium C Supplement sterilizirani su filtracijom kroz filter od 0,1 mikron. Ogledni uzorci proizvoda CHANG Medium B Basal i CHANG Medium C Supplement testirani su na moguću bakteriološku kontaminaciju nakon provedbe protokola testiranja sterilnosti koji je opisan u važećem testu sterilnosti u skladu s Farmakopejom Sjedinjenih Američkih Država, USP <71>.

PRIPREMA ZA UPOTREBU**Liofilizirani dodatak**

1. Omogućiti proizvodu CHANG Medium C Lyophilized Supplement da postigne sobnu temperaturu.
2. Primjenjujući aseptičke metode dodati 10 ml ili 50 ml sterilne destilirane vode u liofilizat. Bočica od 10 ml namijenjena je za 90 ml proizvoda CHANG Medium B Basal; bočica od 50 ml namijenjena je za 450 ml proizvoda CHANG Medium B Basal.

3. Lagano promućkati kako biste dobili cijelokupnu otopinu. (NAPOMENA: možda će biti potrebno inkubirati bočicu 5 do 10 minuta na 37 °C kako bi se dodatak u potpunosti otopio.)
4. Aseptički prenijeti čitav sadržaj rekonstituiranog proizvoda CHANG Medium C Supplement u bocu proizvoda CHANG Medium B Basal.
5. Promućkati bocu kako biste dobro izmiješali cijelokupan proizvod CHANG Medium C.
6. Dodati L-glutamin, 10,0 ml/l (200 mmol/l). Po želji se mogu dodati antibiotici.

Zamrznuti dodatak

1. Brzo odmrznuti proizvod CHANG Medium C Frozen Supplement mučkajući bočicu u vodenoj kupelji temperiranoj na 37 °C.
2. Aseptički prenijeti čitav sadržaj odmrznutog proizvoda CHANG Medium C Supplement u bocu proizvoda CHANG Medium B Basal.
3. Promućkati bocu kako biste dobro izmiješali cijelokupan proizvod CHANG Medium C.
4. Dodati L-glutamin, 10,0 ml/l (200 mmol/l). Po želji se mogu dodati antibiotici.

ALIKVOTIRANJE PROIZVODA CHANG MEDIUM C SUPPLEMENT**Liofilizirani dodatak**

Ako ne možete iskoristiti cijelokupan CHANG Medium C u roku od 10 dana, možete izraditi manje količine sljedeći izmijenjeni postupak naveden u nastavku:

1. Rekonstituirati CHANG Medium C Lyophilized Supplement.
2. Aseptički raspodijeliti u alikvote odgovarajućih veličina i zamrznuti.
3. Aseptički raspodijeliti CHANG Medium B Basal u odgovarajući broj alikvota.
4. Kako biste pripremili cijelokupan CHANG Medium C, dodati jedan alikvot odmrznutog proizvoda CHANG Medium C Supplement jednom alikvotu proizvoda CHANG Medium B Basal.
5. Dobro izmiješati.

Zamrznuti dodatak

1. Odmrznuti CHANG Medium C Frozen Supplement.
2. Aseptički raspodijeliti u alikvote odgovarajućih veličina i ponovno zamrznuti. (NAPOMENA: bočica dodatka sadrži 14 ml ili 70 ml. Ravnomjerno raspodijeliti.)
3. Aseptički raspodijeliti CHANG Medium B Basal u odgovarajući broj alikvota.
4. Kako biste pripremili cijelokupan CHANG Medium C, dodati jedan alikvot odmrznutog proizvoda CHANG Medium C Supplement jednom alikvotu proizvoda CHANG Medium B Basal.
5. Dobro izmiješati.

UPUTE ZA UPOTREBU

pH VRIJEDNOST MEDIAJA KOJI SE KORISTI ZA HRANJENJE KULTURA MORA BITI IZMEĐU 6,8 I 7,2 (tj. medij mora biti žučkasto-ružičaste boje). pH se može jednostavno prilagoditi postavljanjem medija u inkubator s 5 % – 8 % CO₂ u posudi s lagom odvratnim poklopcom. Završna pH vrijednost mora biti 6,8 – 7,2.

Dodatac pojedinosti o upotrebi ovih proizvoda svaki laboratoriј treba potražiti u svojim laboratorijskim postupcima i protokolima koji su posebno razvijeni i optimirani za medicinski program upravo tog laboratoriјa.

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

1. Centrifugirati amnijsku tekućinu pri maloj brzini kako bi se stanice koncentrirale.
2. Obnoviti suspenziju taloga stanica u malom volumenu pacijentične vlastite amnijske tekućine. Na primjer, aspirirati supernatant 10 ml centrifugirane amnijske tekućine do razine od 0,5 ml iznad taloga stanica i obnoviti suspenziju. Dodati odgovarajuću količinu proizvoda CHANG Medium C koncentriranoj suspenziji stanica kako bi se postigao konačan volumen nasadišavanja od 0,5 ml po pokrovnom stakalcu (ukupno 4 pokrovna stakalca) ili od 2 ml po bočici za kulturu.
3. Neometano inkubirati kulturu pri 37 °C u atmosferi s 5 % CO₂.

4. Drugi dan natopiti kulture dodavanjem 2 ml proizvoda CHANG Medium C.
5. Nakon 4 do 5 dana provjeriti rast kultura. Hraniti kulturu nakon što se zabilježi rast. Za hranjenje kultura ukloniti sav supernatant kulture i zamijeniti ga s 2 ml svježeg proizvoda CHANG Medium C. Preporučuje se da se nakon toga kulture hrane svaka 2 dana.
6. Peti dan ili nakon petog dana provjeriti rast kultura i prikupiti ih kada bude zabilježena dovoljna količina kolonija.
7. Najbolji rezultati postižu se kada se kulture hrane proizvodom CHANG Medium C dan prije prikupljanja.

Upotreba proizvoda CHANG Medium C za primarne kulture: metode u tikvici

1. Centrifugirati amnijsku tekućinu pri maloj brzini kako bi se stanice koncentrirale.
2. Obnoviti suspenziju taloga stanica u malom volumenu pacijentične vlastite amnijske tekućine. Na primjer, aspirirati supernatant 10 ml centrifugirane amnijske tekućine do razine od 1 ml iznad taloga stanica i obnoviti suspenziju. Dodati 4 ml proizvoda CHANG Medium C kako bi se postigao ukupan volumen od 5 ml po tikvici.
3. Neometano inkubirati kulturu pri 37 °C u atmosferi s 5 % CO₂.
4. Peti dan i provjeriti rast kultura. Zamijeniti medij svježim proizvodom CHANG Medium C i prikupiti kulturu ako je zabilježen dovoljan rast stanica.
5. Nakon toga svaki drugi dan provjeravati rast kultura i u potpunosti mijenjati medij dok ne bude zabilježena dovoljna količina kolonija spremnih za prikupljanje.
6. Najbolji rezultati postižu se kada se kulture hrane proizvodom CHANG Medium C dan prije prikupljanja.

NAPOMENA: za zatvorene sustave – ispirati svaku tikvicu kulture s 5 % CO₂ – 95 % zraka 20 sekundi. Pritegnuti čepove na tikvicama kultura i inkubirati ih pri 37 °C. (Preporučuje se da se na izvor CO₂ pričvrsti sterilna začepljena Pasteurova pipeta kako bi se osigurala sterilnost ulaznog plina.).

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

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

POHRANA I STABILNOST

Proizvod CHANG Medium C Frozen Supplement pohranjivati na temperaturama nižim od -10 °C, CHANG Medium C Lyophilized Supplement na 2 °C – 8 °C, CHANG Medium B Basal na 2 °C – 8 °C, a cijelokupan CHANG Medium C na 2 °C – 8 °C. Proizvod CHANG Medium B Basal ne smije se zamrzavati.

Zaštititi od fluorescentnog svjetla.

Rokove valjanosti pojedinačnih komponenti potražite na oznakama na bocama tih komponenti. Cijelokupan CHANG Medium C može se pohranjivati na 2 °C – 8 °C 10 dana prije upotrebe i to neće utjecati na funkcionalnost proizvoda. Ne preporučuje se pohranjivati ga duže od 10 dana.

NE ZAMRZAVATI CJELOKUPAN CHANG MEDIUM C. MJERE OPREZA I UPOZORENJA

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

Ne upotrebljavati komponente proizvoda CHANG Medium C nakon isteka roka valjanosti navedenog na oznakama pojedinačnih komponenti.

INDIKAZZJONI GHALL-UŽU

CHANG Medium C jista' jintuża ghall-applikazzjonijiet li jejjin:

- il-kultura primaria ta' ċelloli tal-fluwidu amnijotiku
- it-tkabbir ta' ċelloli sottokultivati tal-fluwidu amnijotiku
- il-kultura a' ċelloli tal-mudullun
- tessut amnijotiku solidu minn kampjuni ta' villi korjoniċi.

DAN IL-MEDIUM ĜIE DDISINJAT GHALL-UŽU KEMM F'SISTEMI MIFTUHA (KULTURI EKWILIBRATI B'ATMOSFERA TA' 5% CO₂) KIF UKOLL MAGHLUQA (KULTURI MGħARRQA B' 5% CO₂ U INKUBATI BL-GHOTJIN TAL-KONTENITURI TAL-KULTURI MAGHLUQIN SEW).

DESKRIZZJONI TAL-APPARAT

CHANG Medium C ġie žviluppatt ghall-kultura primaria ta' ċelloli tal-fluwidu amnijotiku uman ghall-užu fid-determinazzjoni tal-karjot u testijiet ġenetiċi oħra ta' qabel it-tweliż. DIN IL-FORMULA ĜIET OTTIMIZZATA KEMM GHAL SISTEMI MIFTUHA KIF UKOLL MAGHLUQA.

KOMPONENTI

Imluha u Joni	Proteini, Ormoni u Fatturi ta' Tkabbir	Indikatur tal-pH
Sodium Chloride	Fetal bovine serum (FBS)	Phenol Red
Sodium Selenite	Serum la' bovin	Vitamin
Calcium Chloride	Ascorbic acid	u mikroelementi
Choline Chloride	Folic acid	
Potassium Chloride	Nicotinamide	
Potassium	Riboflavin	
Phosphate	Thiamine	
Magnesium Chloride	Pantothenic acid	
Magnesium Sulfate	Cobalamin	
Sodium Phosphate	Pyridoxal	
Ferrozinc Sulfate	Pyridoxine	
Cupric Sulfate		
Zinc Sulfate		
Bafer	Ilma	
Sodium Bicarbonate	Kwalità tal-WFI (Ilma ghall-Injezzjoni)	
Amino Acids	Oħra	
Alanine	Hypoxanthine	
Arginine	Biotin	
Asparagine	Putrescine	
Aspartic Acid	Ethyl alcohol	
Cysteine	Antifossidant	
Cystine	Thioctic acid	
Glutamic Acid	Acidi nuklejici	
Glutamine	Deoxyadenosine	
Glycine	Deoxycytidine	
Histidine	Deoxyguanosine	
Isoleucine	Adenosine	
Leucine	Cytidine	
Lysine	Guanosine	
Methionine	Thymidine	
Phenylalanine	Uridine	
Proline	Substrati	
Serine	tal-Enerġija	
Threonine	Glucose	
Tryptophan	Pyruvate	
Tyrosine	Inositol	

ASSIGURAZZJONI TAL-KWALITÀ**STERILITÀ**

Serum użat fil-produzzjoni ta' CHANG Medium C Supplement ġie ttestejt ghall-kontaminazzjoni minn virus skont CFR Titolu 9 Taqsjoni 113.53. Ĝie skrinjet ukoll ghall-kontaminazzjoni minn mikoplazma. Kemm CHANG Medium B Basal u CHANG Medium C Supplement jiġu sterilizzati permezz ta' filtrazzjoni minn ġo filtru ta' daqs 0.1 mikron. Kampjuni rappreżentativi ta' CHANG Medium B Basal u CHANG Medium C Supplement huma ttestejti għall-possibbiltà ta' kontaminazzjoni batteriologika skont il-protokoll ta' t-testjar ghall-isterilità deskritt fit-test attwali tal-USP ghall-isterilità <71%.

PREPARAZZJONI GHALL-UŽU**Suppliment Lijofilizzat**

- Halli li CHANG Medium C Lyophilized Supplement jekwilibra mat-temperatura ambjentali.
- Bl-užu ta' teknici asettici, žid 10 mL jew 50 L ta' ilma distillat sterili mal-lijofilizzat. Il-kunġett ta' 10 mL huwa għal 90 mL ta' CHANG Medium B Basal; il-kunġett ta' 50 mL huwa għal 450 mL ta' CHANG Medium B Basal.

- Dawwar il-kunġett bil-mod sakemm is-soluzzjoni tkun kompluta. (NOTA: Jista' jkun meħtieg li l-kunġett jiġi inkubat f'temperatura ta' 37°C għal 5 sa 10 minuti sabiex is-suppliment jinhall kompletament).
- Ittrasferi b'mod asettiku l-kontenut shiħ tač-CHANG Medium C Supplement rikostitwit ghall-fliekk tač-CHANG Medium B Basal.
- Hawwad sew iċ-CHANG Medium C komplet billi ddawwar il-fliekk.
- Żid L-Glutamine, 10.0 mL/L (200 mM). Jistgħu jiżiedu l-antibijotici jekk ikun mixtieq.

Suppliment Iffrizat

- Holl CHANG Medium C Frozen Supplement malajr billi ddawwar il-kunġett f'banjumaria f'temperatura ta' 37°C.
- Ittrasferi b'mod asettiku l-kontenut shiħ mahlul ta' CHANG Medium C Supplement ghall-fliekk ta' CHANG Medium B Basal.
- Hawwad sew iċ-CHANG Medium C komplet billi ddawwar il-fliekk.
- Żid L-Glutamine, 10.0 mL/L (200 mM). Jistgħu jiżiedu l-antibijotici jekk ikun mixtieq.

IL-PREPARAZZJONI TA' ALIKWOTI TA' CHANG Medium C SUPPLEMENT**Suppliment Lijofilizzat**

Jekk ma tkun tista' tuża CHANG Medium C komplet fi żmien 10 ijiem forsi tkun tiixtieq tipprepara ammonti iż-ġiebi bil-ssegwi din il-modifikazzjoni tal-proċedura:

- Irrikostitwixxi CHANG Medium C Lyophilized Supplement.
- Qassam b'mod asettiku f'alikwoti ta' daqs konvenjenti u erġa' ffrīza. (NOTA: Il-kunġett tas-suppliment fi 14 mL jew 70 mL. Qassam b'mod ugħalli.)
- B'mod asettiku wkoll iddipprezza ċ-CHANG Medium B Basal f'numru korrispondenti ta' alikwoti.
- Sabiex tipprepara CHANG Medium C komplut, žid alikwota waħda ta' CHANG Medium C Supplement wara li tinħall ma' alikwota waħda ta' CHANG Medium B Basal.
- Hawwad sew.

Suppliment Iffrizat

- Holl CHANG Medium C Frozen Supplement.
- Qassam b'mod asettiku f'alikwoti ta' daqs konvenjenti u erġa' ffrīza. (NOTA: Il-kunġett tas-suppliment fi 14 mL jew 70 mL. Qassam b'mod ugħalli.)
- B'mod asettiku wkoll iddipprezza ċ-CHANG Medium B Basal f'numru korrispondenti ta' alikwoti.
- Sabiex tipprepara CHANG Medium C komplut, žid alikwota waħda ta' CHANG Medium C Supplement wara li tinħall ma' alikwota waħda ta' CHANG Medium B Basal.
- Hawwad sew.

ISTRUZZJONIJIET DWAR L-UŽU

IL-pH TAL-MEDIUM UŻAT BIEX JITMA 'L-KULTURI JRID IKUN BEJN 6.8-7.2 (jigħiġi l-ġid u tħalli fit-titħbi safrani-fis-salamun). Il-pH jista' jiġi aġġustat b'mod hafif billi tpoqqi l-ġid u tħalli fit-titħbi minn -10°C. CHANG Medium C Lyophilized Supplement f'temperatura ta' 2°C sa 8°C, CHANG Medium B Basal f'temperatura ta' 2°C sa 8°C, u CHANG Medium C komplut f'temperatura ta' 2°C sa 8°C. CHANG Medium B Basal m'għandu jiġi ffrīza. Ipproteġi minn dawl fluworexxenti.

Ara t-tikketti fuq il-fliekk komponenti individuali għad-dati ta' skadenza specifici. CHANG Medium C komplut jista' jinżamm f'temperatura ta' 2°C sa 8°C għal 10 ijiem qabel jingħiha mingħajr ta' ġid u tħalli fit-titħbi minn -10°C. Muix irrakkommandat li jinħażu għal 10 ijiem. TIFFRIZAX CHANG MEDIUM C.KOMPLUT

- Wara 4 jew 5 ijiem, għandu jiġi čċekkja kemm kibru l-kulturi. Il-kulturi għandhom jiġu misqija malli jiġi osservat li bdew jikbru. Isqi l-kulturi billi tneħhi s-supernat kollu tal-kultura u tbiddi b'2 mL ta' CHANG Medium C frisk. Huwa rrakkommandat li mbagħad il-kulturi jiġi misqijin kull jumejn.
- Iċċekkja kemm kibru l-kulturi fil-jew wara 1-5 jum meta jiġi osservat numru suffiċċenti ta' kolonji.
- Jinkisbu l-ahjar riżultati meta l-kulturi jiġi misqijin biċ-CHANG Medium C fil-jum ta' qabel il-hsas.

L-UŽU TA' CHANG Medium C Għal Kulturi Primariji: Metodoloġiji fil-Flask

- Iċċentrifuga l-fluwidu amnijotiku f'velocità baxxa biex tikkonċentra ċ-ċelloli.
- Erġa' ssospendi l-gerbuba tač-ċelloli f'volum żgħir tal-fluwidu amnijotiku f'velocità baxxa biex tikkonċentra ċ-ċelloli.
- Aspira s-supernate ta' 10 mL tal-fluwidu amnijotiku ċċentrifugat sa' 0.5 mL 'i fuq mill-gerbuba tač-ċelloli u erġa' ssospendi. Żid ammont suffiċċenti ta' CHANG Medium C lis-suspensioni tač-ċelloli kkoncentrati sabiex ikun hemm il-volum finali ghall-ġħalli plakkatura ta' 0.5 mL għal kull cover slip (total ta' 4 kopertini) jew 2 mL għal kull flasketta.
- Inkuba l-kulturi mingħajr ċaqqi tħalli fit-titħbi minn -10°C. Huwa rrakkommandat li jinħażu għal 10 ijiem. TIFFRIZAX CHANG MEDIUM C.KOMPLUT

PREKAWZJONIJIET U TWISSIJIET

Dan l-apparat huwa maħsub ghall-užu minn persunal imharreġ fi proċeduri li jinkludi l-applikazzjoni indikata li għaliha huwa maħsub l-apparat.

Tużax il-komponenti ta' CHANG Medium C wara d-data ta' skadenza indikata fuq il-tikketti individuali.

SLOVENŠČINA

INDIKACIJE ZA UPORABO

Medij CHANG Medium C se lahko uporablja za naslednje aplikacije:

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

TA MEDIJ JE ZASNOVAN ZA UPORABO V ODPRTIH (KULTURE, URAVNOTEŽENE V ATMOSFERI S 5 % CO₂) IN ZAPRTIH SISTEMIH ZA GOJENJE KULTUR (KULTURE S 5 % CO₂ IN INKUBIRANE V TRDNO ZAPRTIH POSODAH).

OPIS PRIPOMOČKA

Medij CHANG Medium C je razvit za primarno kulturo humanih celic amnijske tekočine za uporabo pri določanju kariotipa in drugih antenatalnih genskih testov. TA FORMULA JE OPTIMIZIRANA ZA ODPRTIE IN ZAPRTIE SISTEME.

KOMPONENTE

Soli in ionji	Beljakovine,	Indikator
Natrijev klorid	hormoni in rastni faktorji	vrednosti pH
Natrijev selenit	Serum govejega zarodka (FBS)	Fenol rdeče
Kalcijev klorid	Serum	Vitamini in elementi v sledovih
Holinoljeklorid	novorojenega teleta	Askorbinska kislina
Kalijev klorid	Humani transferin	Folna kislina
Kalijev fosfat	Fibroblastni rastni faktor (FGF)	Nikotinamid
Magnezijev klorid	Inzulín	Riboflavin
Magnezijev sulfat	Progesteron	Tiamin
Natrijev fosfat	Testosteron	Pantotsenska kislina
Zelenzov sulfat	Beta-estradiol	Kobalamin
Bakrov sulfat	Hidrokortizón	Piridoksal
Cinkov sulfat	Voda	Piridoksin
<u>Puffer</u>	Kakovost, ki ustreza vodi za injekcije	
Natrijev bikarbonat	<u>Drugo</u>	
Aminokisline	Hipokantin	
Alanin	Biotin	
Arginin	Putrescin	
Asparagin	Etilni alkohol	
Asparaginska kislina	Antioksidant	
Cistein	Tioktična kislina	
Cistin	Nukleinske kisline	
Glutaminska kislina	Deoksidiadenozin	
Glutamin	Deoksicitidin	
Glicin	Deoksigvanozin	
Histidin	Adenozin	
Izolevcin	Citidin	
Levcin	Gvanozin	
Lizin	Timidin	
Metionin	Uridin	
Fenilalanin	<u>Energijski substrati</u>	
Prolin	Glukoza	
Serin	Piruvat	
Treonin	Inozitol	

ZAGOTAVLJANJE KAKOVOSTI

STERILNOST

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

PRIPRAVA ZA UPORABO

Liofiliziran dodatek

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

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

Zamrznjeni dodatek

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

ALIKVOTIRANJE MEDIJA CHANG

MEDIUM C SUPPLEMENT

Liofiliziran dodatek

Če v 10 dneh ne morete porabiti celovitega medija CHANG Medium C, boste morda žeeli s tem spremenjenim postopkom pripraviti manjše količine:

1. Rekonstituirajte medij CHANG Medium C liofiliziran dodatek.
2. Aseptično ga porazdelite na alikvote primerne velikosti in zamrznite.
3. Tudi medij CHANG Medium B Basal aseptično razdelite na ustrezno število alikvot.
4. Celovit medij CHANG Medium C pripravite tako, da en alikvot odtaljenega medija CHANG Medium C Supplement doda enemu alikvotu medija CHANG Medium B Basal.
5. Dobro premešajte.

Zamrznjeni dodatek

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

NAVODILA ZA UPORABO

VREDNOST pH MEDIJA, KI SE UPORABLJA ZA HRANjenje KULTUR, MORA BITI MED 6,8 IN 7,2 (tj. medij mora biti rahlo rumenkaste barve lososa). Vrednost pH zlahka prilagodite tako, da medij postavite v inkubator s 5–8 % CO₂ (pokrovček naj bo nekoliko priprt).

Končni pH mora biti 6,8–7,2.

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

Uporaba medija CHANG Medium C za primarne kulture: Metodologije *in situ*

1. Centrifugirajte amnijsko tekočino pri nizki hitrosti, da koncentrirate celice.
2. Ponovno suspendirajte celično usedlino v majhnem volumnu bolnične lastne amnijske tekočine. Lahko na primer aspirirate supernatant 10 ml centrifugirane amnijske tekočine na raven 0,5 ml nad celično usedlino in ponovno suspendirajte. V koncentrirano celično suspenzijo dodajte dovolj medija CHANG Medium C, da dobite končni volumen za prevleko 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 % CO₂ pri 37 °C.
4. 2. dan kulture zalijte z 2 ml medija CHANG Medium C.

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

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

OPOMBA: Pri zaprtih sistemih vsako bučko za kulture 20 sekund spirajte s 5 % CO₂ in 95 % zraka. Trdno zaprite pokrovčke bučk za kulture in jih inkubirajte pri 37 °C. (Priporočljivo je, da na dovod CO₂, pritrpite sterilno Pasteurjevo pipeto, ki bo zagotavljala sterilnost dojavanega plina.)

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

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

SHRANJEVANJE IN STABILNOST

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

Zaščitite pred fluorescenčno svetlobo.

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

CELOVITEGA MEDIJA CHANG MEDIUM C NE SMETE ZAMRZNITI.

PREVIDNOSTNI UKREPI IN OPOZORILA

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

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