



CHANG Medium *In Situ* For Human Amniotic Fluid Cells

Catalog No. T104

For *in vitro* diagnostic use.

Zur *In-vitro*-Diagnostik.

Solo per uso diagnostico *in vitro*.

Para uso diagnóstico *in vitro*.

Pour diagnostics *in vitro*.

Para utilização em diagnóstico *in vitro*.

Για *in vitro* διαγνωστική χρήση.

Pro diagnostické použití *in vitro*.

Til *in vitro*-diagnostik.

In vitro -diagnostikkaan.

Lietošanai *in vitro* diagnostikā.

Uitsluitend voor *in vitro* diagnostisch gebruik.

Do diagnostyki *in vitro*.

Pentru uz diagnostic *in vitro*.

För *in vitro*-diagnostik.

In vitro diagnostiliseks kasutamiseks.

In vitro diagnostikāi alkalalmazáshoz.

Skirta *in vitro* diagnostikai.

In vitro diagnostik kullanim için.

Na diagnostické použití *in vitro*.

За *in vitro* диагностична употреба.

Za upotrebu u *in vitro* dijagnostici.

Ghal užu dijanjostiku *in vitro*.

Za diagnostično uporabo *in vitro*.

Glossary of Symbols*:

	Catalog Number
	Lot Number
	Sterilized using aseptic processing techniques (filtration)
	Expiration: Year - Month - Day
	Caution, consult accompanying documents
	Consult instructions for use
	Storage Temperature below -10°C
	Do not resterilize
	Do not use if package is damaged
	Manufacturer
	CE Mark
	Emergo Europe - Westervoortsedijk 60 6827 AT Arnhem The Netherlands

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

ENGLISH

INDICATION FOR USE

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

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

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

DEVICE DESCRIPTION

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

COMPONENTS

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

QUALITY ASSURANCE

STERILITY

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

PREPARATION FOR USE

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

ALIUQUOTING CHANG MEDIUM *In Situ*

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

DIRECTIONS FOR USE

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

The final pH must be 6.8-7.2.

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

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

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

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

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

STORAGE AND STABILITY

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

Protect from fluorescent light.

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

PRECAUTIONS AND WARNINGS

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

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

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



FUJIFILM Irvine Scientific, Inc.

2511 Daimler Street, Santa Ana, California 92705 USA

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

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

PN 40280 Rev. 10

Effective Date: 27-DEC-2024

PORTUGUÊS

INDICAÇÃO DE UTILIZAÇÃO

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

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

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

DESCRIÇÃO DO DISPOSITIVO

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

COMPONENTES

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

GARANTIA DE QUALIDADE

ESTERILIDADE

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

PREPARAÇÃO PARA UTILIZAÇÃO

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

DIVIDIR EM ALÍQUOTAS O CHANG MEDIUM

In Situ

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

INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

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

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

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

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

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

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

CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE

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

Proteger da luz fluorescente.

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

PRECAUÇÕES E ADVERTÊNCIAS

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

Não utilize um frasco cuja embalagem estéril tenha sido comprometida.

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

POLSKI

PRZEZNACZENIE

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

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

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

OPIS WYROBU

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

SKŁADNIKI

<u>Aminokwasy</u>	<u>Sole i jony</u>
Alanina	Chlorek sodu
Arginina	Chlorek potasu
Asparagina	Fosforan sodu
Kwas asparaginowy	Fosforan potasu
Cysteina	Chlorek wapnia
Cystyna	Siarczan magnezu
Kwas glutaminowy	Chlorek choliny
Glutamina	Chlorek magnezu
Glicyna	Selenian sodu
Histydyna	Siarczan miedzi
Izoleucyna	Siarczan żelaza
Leucyna	Siarczan cynku
Lizyna	<u>Białka, hormony</u>
Metionina	<u>i czynniki wzrostu</u>
Fenylalanina	Płódowa surowica bydłęca
Prolina	Surowica nowonarodzonych cieląt
Seryna	Czynniki wzrostu
Treonina	fibroblastów (FGF)
Tryptofan	Transferyna
Tyrozyna	Insulina
Walina	Progesteron
<u>Bufor</u>	Testosteron
Wodorowęglan sodu	B-estradiol
<u>Witaminy i pierwiastki śladowe</u>	Hydrokortyzon
Biotyna	<u>Kwasy nukleinowe</u>
Ryboflawina	Cytydyna
Kwas askorbinowy	Deoksyadenozyna
Kwas foliowy	Deoksytydyna
Kwas nikotynowy	Deoksyguanozyna
Kwas pantotenowy	Guanozyna
Pirydoksal	Tymidyna
Pirydoksyna	Urydyna
Tiamina	Adenozyna
Witamina B12	Hipoksyantyna
<u>Substraty energetyczne</u>	<u>Antyoksydant</u>
Glukoza	Kwas tiotankowy
Inozytol	Inne
Pirogronian	Alkohol etylowy
<u>Wskaźnik pH</u>	Putrescyna
Czerwień fenolowa	

ZAPEWNIANIE JAKOŚCI

STERYLNOŚĆ

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

PRZYGOTOWANIE DO UŻYCIA

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

ROZDZIELANIE POŻYWKI CHANG MEDIUM *In Situ* NA PORCJE

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

INSTRUKCJA UŻYCIA

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

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

Stosowanie pożywkę CHANG Medium *In Situ* dla hodowli pierwotnych: metody *in situ*

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

Stosowanie pożywkę CHANG Medium *In Situ* do prowadzenia hodowli pasażowanych komórek płynu owodniowego:

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

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

PRZECHOWYWANIE I STABILNOŚĆ

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

Chronić przed światłem fluorescencyjnym.

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

ŚRODKI OSTROŻNOŚCI I OSTRZEŻENIA

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

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

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

SLOVENŠČINA

INDIKACIJE ZA UPORABO

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

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

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

OPIS PRIPOMOČKA

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

KOMPONENTE

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

ZAGOTAVLJANJE KAKOVOSTI

STERILNOST

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

PRIPRAVA ZA UPORABO

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

ALIKVOTIRANJE MEDIJA CHANG MEDIUM *In Situ*

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

NAVODILA ZA UPORABO

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

Končni pH mora biti 6,8–7,2.

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

1. Centrifugirajte amnijsko tekočino pri nizki hitrosti, da koncentrirate celice.
2. Ponovno suspendirajte celično usedlino v majhnem volumu bolnične lastne amnijske tekočine. Lahko na primer aspirirate supernatant 10 ml centrifugirane amnijske tekočine na raven 0,5 ml nad celično usedlino in ponovno suspendirate. V koncentrirano celično suspenzijo dodajte dovolj medija CHANG Medium *In Situ*, 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 5–8 % CO₂ pri 37 °C.
4. 2. dan kulture zalijte z 2 ml medija CHANG Medium *In Situ*.
5. Po 4 do 5 dneh preverite, ali kulture rastejo. Ko opazite rast, morate kulture nahraniti. Kulture nahranite tako, da odstranite ves supernatant kulture in ga nadomestite z 2 ml svežega medija CHANG Medium *In Situ*. Priporočljivo je, da v nadaljevanju kulture nahranite vsaka 2 dni.
6. Na 5. dan ali po 5. dnevu preverite, koliko so kulture zrastle, in jih spravite, ko opazite dovolj kolonij.
7. Rezultat bo najboljši, če kulture nahranite z medijem CHANG Medium *In Situ* en dan, preden jih spravite.

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

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

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

SHRANJEVANJE IN STABILNOST

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

Zaščitite pred fluorescenčno svetlobo.

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

PREVIDNOSTNI UKREPI IN OPOZORILA

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

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

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