

Amniochrome™ Medien

Produkt Information

Amniochrome™ Plus

02-026E	100 ml
02-026F	500 ml

Amniochrome™ Pro

02-035E	100 ml
02-035F	500 ml

Amniochrome™ II **Modified Complete Media System**

12-756EZM	100 ml
(geliefert als: 12-756E+17-524ZM)	

12-756FCM	500 ml
(geliefert als: 12-756F+17-524CM)	

Warnhinweis

Biologisches Material mit entsprechenden Sicherheitsvorkehrungen verwenden

Produktübersicht

Vorgesehener Einsatz

Amniochrome™ Medien sind vorgesehen für den Einsatz bei *In Vitro* Diagnostik Untersuchungen und sind optimiert für Primärkulturen humaner Amnionzellen (AFC) und Chorion Villi Biopsieproben (CVS), welche zum Zweck der Karyotypisierung, Fluoreszenz *In-Situ* Hybridisierung (FISH) und anderen zytogenetischen Methoden verwendet werden.

Jede Charge wird vor Freigabe sorgfältigen Qualitätstestungen unterworfen. Ein unabhängiges Europäisches Prüfinstitut gewährleistet die Eignung für den vorgesehenen Einsatz.

Allgemeines

Seit der ersten erfolgreichen Kultivierung von Amnionzellen in den 60'iger Jahren stellen Amniocentese (Fruchtwasserpunktion) und Chorionzotten Biopsie Probennahme (CVS) die wesentlichen Methoden zur invasiven Diagnostik im Rahmen der klinischen Untersuchung von Chromosomenanomalien eines Fetus zur Abklärung des Risikos von genetisch bedingten Erkrankungen dar.

Amnionzellen, welche eine Vielzahl von Zelltypen¹⁻³ repräsentieren, spiegeln den Status des Fötus hinsichtlich biochemischer und zytogenetischer Eigenschaften wieder.

Diese Zellen können daher in der klinischen Diagnose für DNA-Analysen⁴ und zur Beobachtung fötaler Chromosomen-veränderungen⁵⁻⁶, sowie Defekten in Stoffwechselenzymen⁷⁻¹⁰ eingesetzt werden.

Für die erfolgreiche pränatale Diagnostik ist eine rasche *ex-vivo* Kultivierung und anschließende Karotypisierung der Amnionzellen erforderlich.

Die Kultivierung von Amnionzellen und Chorion Villi Zellen ist in konventionellen mit Kälberserum supplementierten Kulturmedien oder in speziellen Kulturmedien möglich¹¹⁻¹³.

Produkt Beschreibung

Amniochrome™ Medien wurden speziell für die *In Vitro* Pränataldiagnostik von humanen Fötalzellen aus Amnionflüssigkeit und Chorion Villi Biopsie Probenmaterial entwickelt und sollen eine

standardisierte Verwendung gewährleisten. Jede Formulierung wurde sorgfältig in Funktionstests auf Probenmaterial aus Amniocentesen und Chorionzotten Biopsien in Hinsicht auf Anheftung und wachstumsfördernde Substanzen optimiert um die Zeitdauer der Diagnose zu minimieren indem die Anheftung und das Wachstum maximiert wird. Jede produzierte Charge wird identisch gegen Standards getestet um die Funktionalität in der klinischen Anwendung zu gewährleisten.

Amniochrome™ Plus Medium

Amniochrome™ Plus Medium (02-026) wird gefroren und gebrauchsfertig geliefert und enthält bereits Antibiotika, L-Glutamin und FBS sowie Hormone und Wachstumsfaktoren, wodurch zusätzliche Anwenderfreundlichkeit gewährleistet ist.

Amniochrome™ Plus ist Natrium Bikarbonat gepuffert und enthält Phenolrot als pH-Indikator. Die gebrauchsfertige Formulierung reduziert die Möglichkeit technischer Fehler und Kontaminationen. Zudem fördert dieses Produkt die Zellanheftung und das Zellwachstum effizienter und erlaubt daher eine frühere Chromosomenanalyse.

Amniochrome™ Plus wird in 100 ml and 500 ml Konfigurationen angeboten.

Amniochrome™ Pro Medium

Amniochrome™ Pro Medium (02-035) wird gefroren und gebrauchsfertig geliefert und enthält bereits Antibiotika, L-Glutamin und FBS sowie Hormone und Wachstumsfaktoren, wodurch zusätzliche Anwenderfreundlichkeit gewährleistet ist.

Amniochrome™ Pro ist Natrium Bikarbonat gepuffert und enthält Phenolrot als pH-Indikator. Die gebrauchsfertige Formulierung reduziert die Möglichkeit technischer Fehler und Kontaminationen. Zudem fördert dieses Produkt die Zellanheftung und das Zellwachstum effizienter und erlaubt daher eine frühere Chromosomenanalyse.

Amniochrome™ Pro wird in 100 ml and 500 ml Konfigurationen angeboten.

Amniochrome™ II Modified Complete Medium System

Amniochrome™ II Modified besteht aus einem gekühlt gelagerten Basalmedium (Kat. Nr. 12-756), das in 100 ml and 500 ml Flaschen

angeboten wird, und einem gefrorenen Supplement (Kat. Nr. 17-524), das als 7 ml und 35 ml Format erhältlich ist. Das vollständige Mediensystem besteht aus Basalmedium und Supplement und kann bestellt werden unter 12-756EZM (100 ml) oder 12-756FCM (500 ml)

Das gebrauchsfertige Medium enthält bereits Antibiotika, L-Glutamin, FCS sowie Hormone und Wachstumsfaktoren, wodurch zusätzliche Anwenderfreundlichkeit gegeben ist.

Amniochrome II Modified ist Natrium Bikarbonat und HEPES gepuffert und enthält Phenolrot als pH-Indikator.

Lagerung und Haltbarkeit

Amniochrome™ Plus und Amniochrome™ Pro

Lagerung lichtgeschützt unter -18°C bis zu dem auf dem Etikett aufgedruckten Verfallsdatum.

Amniochrome™ II Modified Complete Media

Lagerung des gefrorenen Supplements unter -18°C, lichtgeschützt. Lagerung des flüssigen Basalmediums lichtgeschützt bei 2°C bis 8°C bis zum aufgedruckten Verfallsdatum.

Einschränkung: Keine Verwendung nach dem aufgedruckten Verfallsdatum.

Gebrauchsanweisung

Ansetzen des Mediums

Amniochrome™ Plus Medium und Amniochrome™ Pro Medium – Sollten in einem Wasserbad oder in einem Inkubator bei 30°C bis 37°C aufgetaut werden. Zu hohe Temperaturen führen zum Abbau temperaturlabiler Nährstoffe. Bei der Verwendung eines Wasserbades vermeiden Sie das Untertauchen des Deckels (der Flasche). Schwenken sie das Medium vorsichtig, bis es vollständig aufgetaut ist. Regelmässiges Durchmischen ist der Schlüssel um Niederschläge beim Auftauen zu verhindern.

Amniochrome™ II Modified – Das Supplement sollte in einem Wasserbad oder Inkubator bei 30°C bis 37°C vollständig aufgetaut werden. Zu hohe Temperaturen führen zum Abbau temperaturlabiler Nährstoffe. Bei der Verwendung eines Wasserbades vermeiden Sie das Untertauchen des Deckels (der Flasche).

Schwenken sie das Medium vorsichtig, bis es vollständig aufgetaut ist. Regelmässiges Durchmischen ist der Schlüssel um Niederschläge beim Auftauen zu verhindern.

Fügen Sie aseptisch das Amniochrome™ II Supplement zu einer Flasche Amniochrome™ II Basalmedium, d. H. 7 ml des Supplements zu 100 ml Basalmedium oder 35 ml des Supplements zu 500 ml Basalmedium.

Schwenken Sie das komplementierte Amniochrome™ II complete Medium vorsichtig, um eine vollständige Durchmischung zu gewährleisten. Vermeiden Sie Schaumbildung.

Amniochrome™ Medien sollten nach dem Öffnen lichtgeschützt bei 2°C to 8°C gelagert werden und zur Gewährleistung der maximalen Funktionsfähigkeit innerhalb von 2 Wochen verwendet werden. Vermeiden Sie wiederholtes Aufwärmen und Abkühlen sowie eine Lichtexposition über längere Zeit.

Amniochrome™ Medien enthalten Fötale Rinderserum (FBS); daher kann sich beim Auftauen und bei der Lagerung ein flockiger Niederschlag bilden.

Antibiotika

Amniochrome™ Medien enthalten Gentamycin, das eine geringere wachstumshemmende Wirkung als Penicillin und Streptomycin aufweist.

Wachstumstest

Amniochrome™ Medien werden gemäß EP auf Sterilität, pH-Wert und Endotoxingehalt getestet. Zusätzlich zu diesen Standardspezifikationen, wird jede produzierte Charge durch ein unabhängiges Europäisches Cytogenetisches Labor in Wachstumsversuchen getestet und die Ergebnisse werden mit einem Referenzstandard verglichen. Ein Analysenzertifikat ist auf Anfrage erhältlich.

Vorsichtsmaßnahmen

Bei jeglichen Fragen bezüglich des Produkts kontaktieren Sie direkt unsere Verkaufs & Marketingabteilung bei Lonza Verviers oder bitten Sie Ihre lokale Vertriebsfirma dies in Ihrem Namen zu tun.

Verwenden Sie das Produkt nicht, falls

- Die Verpackung beschädigt ist
- Das Produkt eine Trübung oder sichtbare Niederschläge aufweist
- Die Farbe nicht orange-rot ist

Sollte das Produkt vollständig oder teilweise aufgetaut geliefert werden, lagern Sie es umgehend unter -18°C und kontaktieren Sie Lonza Verviers.

NUR ZUR ANWENDUNG IN *IN VITRO* DIAGNOSTISCHEN PROZEDUREN; FÜR DIE KULTIVIERUNG ODER DAS WACHSTUM VON HUMANEN AMNIONZELLEN UND/ODER MATERIAL AUS CHORIONZOTTENBIOPSIEN (CVS):

Zusätzliche Supplementation der Amniochrome™ Complete Medien wird nicht empfohlen. Zugabe weiterer Komponenten oder Verdünnung des Mediums kann negative Auswirkungen auf das Zellwachstum und die Chromosomenintegrität haben.

Einschränkungen

Jedes Labor muss neues Medium in einer internen Prozedur testen, bevor es für Routineanwendungen im Labor freigegeben wird. Der Beitrag von Lonza Verviers besteht lediglich in der Bereitstellung eines Kulturmediums. Lonza Verviers garantiert nicht für ein erfolgreiches Testergebnis nur basierend auf der Verwendung von Lonza Verviers medium.

Jede produzierte Charge **Amniochrome™ Medium** unterliegt sorgfältigen Qualitätstests auf primären Amniozentese flüssigkeit um die Funktionsfähigkeit des Produkts in der *in vitro* Diagnostik zu gewährleisten.

Lonza Verviers Zellkulturmedien werden in einem unter aseptischen Bedingungen hergestellt. Jeder Arbeitsschritt wurde validiert um zu gewährleisten das alle Produkte in Bezug auf die Sterilität dem Industriestandard von 10^{-3} (Keimen pro..) entsprechen, dies bedeutet, dass während des Herstellungsprozesses eine Kontamination von nicht mehr als 1 von 1000 Produktionseinheiten auftritt. Die höchste Stufe der Sterilität (größer oder gleich 10^{-6}) kann nur durch einem abschließenden Sterilisationsschritt erreicht werden, der für die Funktionsfähigkeit dieser Zellkulturprodukte schädlich wäre.

Zellkulturprotokolle

Die unten aufgeführten Protokolle stellen eine Hilfe zur AFC und CVS Kultur mit **Amniochrome™ Medien** dar. Es liegt im Ermessen des Anwenders entweder einzelne Teile oder das gesamte optimierte Protokoll für AFC and CVS Kultur zu ersetzen. Die Mehrzahl der Cytogenetischen Labore haben eigene Protokolle und **Amniochrome™ Medien** können, in den meisten Fällen, einfach in die existierenden Protokolle aufgenommen werden. Am verbreitetsten ist die Kulturmethode, die ein offenes System verwendet.

Offenes System / Geschlossenes System

Definition eines "offen" Systems: Kulturen, die in Schalen oder in Flaschen / Röhrchen mit belüfteten Deckeln in einer 5%igen CO₂ Atmosphäre wachsen (Gasinkubator), wodurch ein Gasaustausch möglich wird.

Definition des "geschlossenen" Systems: Kulturen, die in einem trockenen Standardinkubator ohne Gasatmosphäre in verschlossenen Kulturgefäßen angezogen werden.

Empfehlungen bei der Verwendung eines "Offenen" Systems

In situ Methode

1. Konzentrieren Sie die Zellen durch Zentrifugation der Amnionflüssigkeit bei niedriger Geschwindigkeit.
2. Nehmen sie 90-95% des Kulturüberstands ab und resuspendieren Sie das Zellpellet im verbleibenden Volumen der Amnionflüssigkeit der Patientien. Verdünnen sie die konzentrierte Zellsuspension mit ausreichend Amniochrome™ Complete Medium um ein Aussaatvolumen von 0.5 ml pro Objektträger (bei insgesamt 4 Objektträgern) oder 2 ml pro Fläschen zu erreichen.
3. Inkubieren Sie die Kulturen bei 37°C in einer 5%igen CO₂ Atmosphäre.
4. Geben Sie am zweiten Tag 2 ml Amniochrome™ Complete Medium zu jeder Kultur.
5. Überprüfen Sie das Wachstum der Kulturen nach 4 bis 5 Tagen. Füttern sie die Kulturen sobald das Wachstum einsetzt. Um die Kulturen zu füttern nehmen Sie das gesamte aufgebrauchte Kulturmedium ab und ersetzen Sie es mit 2 ml frischem Amniochrome™ Complete Medium. Empfehlung: wechseln Sie das Medium jeden 2. Tag
6. Überprüfen Sie das Wachstum der Kulturen an oder nach Tag 5, und Ernte Sie die Kultur, falls ausreichend Kolonien vorhanden sind.
7. Um optimale Ergebnisse zu erzielen wechseln sie das *Amniochrome Medium* am Tag vor der Ernte.

Anzucht in Flaschen

1. Konzentrieren Sie die Zellen durch eine Zentrifugation der Amnionflüssigkeit bei niedriger Geschwindigkeit.
2. Nehmen sie 90-95% des Kulturüberstands ab und resuspendieren Sie das Zellpellet im verbleibenden Volumen der Amnionflüssigkeit der Patientien. Verdünnen sie die konzentrierte Zellsuspension mit ausreichend Amniochrome™ Complete

Medium um ein Aussaatvolumen von 0.5 ml pro Objektträger (bei insgesamt 4 Objektträgern) oder 2 ml pro Fläschen zu erhalten.

3. Inkubieren Sie die Kulturen bei 37°C in einer 5%igen CO₂ Atmosphäre.
4. Geben Sie am zweiten Tag 2 ml Amniochrome™ Complete Medium zu jeder Kultur.
5. Überprüfen Sie das Wachstum der Kulturen nach 4 bis 5 Tagen. Füttern sie die Kulturen sobald das Wachstum einsetzt. Um die Kulturen zu füttern nehmen Sie das gesamte aufgebrauchte Kulturmedium ab und ersetzen Sie es mit 2 ml frischem Amniochrome™ Complete Medium. Empfehlung: wechseln Sie das Medium jeden 2. Tag
6. Überprüfen Sie das Wachstum der Kulturen an oder nach Tag 5, und Ernte Sie die Kultur, falls ausreichend Kolonien vorhanden sind.
7. Für ein optimales Ergebnis wechseln sie das *Amniochrome™ Medium* am Tag vor der Ernte.

Empfehlungen bei Verwendung eines „geschlossenen“ Systems

Amniochrome™ Medien können in einem "geschlossenen" System verwendet werden, solange der pH im physiologischen Bereich bleibt (pH = 6.9 to 7.4). Geschlossene Systeme basieren auf der dem Medium innewohnenden Pufferkapazität bei Fehlen des Vorteils der durch das Gleichgewicht im Medium enthaltenen Bikarbonat und den 5% CO₂ in einem offenen Inkubationssystem besteht. Geschlossene Systeme funktionieren am besten in Anwendungen mit geringer Zelldichte, da höhere Zelldichten saure Stoffwechselprodukte produzieren, die das Medium über die physiologische Pufferkapazität hinaus ansäuern können. Ein stabiler pH-Werte kann in einem geschlossenen System durch eine der drei folgenden Methoden aufrechterhalten werden:

- Methode 1: Supplementieren Sie **Amniochrome™ Plus Medium oder Amniochrome™ Pro Medium** mit 2% v/v) einer sterilen 1.0 M HEPES Stocklösung. Die sterile 1.0 M HEPES muss auf einen pH von 7.0 bei 20°C mit 1.0 M NaOH eingestellt werden. Das HEPES supplementierte Medium wird anschließend auf die Zellen

gegeben und die Inkubation bei 37°C in geschlossenen Flaschen fortsetzen.

- Methode 2: Prä-äquilibrieren Sie die Kulturflaschen mit **Amniochrome™ Plus Medium** oder **Amniochrome™ Pro Medium** und Zellen in einem offenen 5% CO₂ Inkubator für eine Stunde bevor Sie den Deckel verschliessen und bei 37°C inkubieren.
- Methode 3: Befüllen Sie einzeln jede Flasche mit **Amniochrome™ Plus Medium** oder **Amniochrome™ Pro Medium** und Zellen mit 5% CO₂ - 95% Luft über eine sterile Pipette für 20 Sekunden. Verschliessen Sie anschließend den Deckel und inkubieren Sie in einem geschlossenen System bei 37°C. (Wir empfehlen das eine Pasteurpipette steril an eine CO₂ Quelle angeschlossen wird um die Sterilität des einströmenden Gases zu gewährleisten.).
- **Amniochrome II Modified Complete Medium** kann direkt in einem geschlossenen System verwendet werden, da es zur Aufrechterhaltung des pH-Werts HEPES enthält.

REFERENZEN

1. Knutsen, T., (1990) International Cytogenetic Laboratory Directory, Association of Cytogenetic Technologists, ed.
2. Priest, R.E., Marimuthu, K.M., Priest J.H. (1978) Origin of human amniotic fluid cultures. *Lab. Invest.* **39**, 106.
3. Bobrow, M., Evans, C.J., Noble, J., and Patel, C. (1978) Cellular content of amniotic fluid as predictor of central nervous system malformations. *J. Med. Gen.* **15**, 97.
4. Hirota, T., Kondoh, T., Matsumoto, T., Jinno, Y., Niikawa, N. (1989) Microextraction of DNA from whole blood and amniocytes. *Jpn. J. Human Genet.* **34**, 217.
5. Henry, G.P., Peakman, D.C., Robinson, A. (1978) Prenatal genetic diagnosis: Nine years experience. *Obstet. Gynecol. Survey* **33**, 569.
6. -Hecht, F., Peakman, D.C., Kaiser-McCaw, B., Robinson, A. (1981) Amniocyte clones for prenatal cytogenetics. *Amer. J. Med. Genet.* **10**, 51.
7. Rosenblatt, D.S., Hosack, A. and Matiaszuk, N. (1987) Expression of transcobalamin II by amniocytes. *Prenatal Diagnosis* **7**, 35.
8. Moser, H.W., Moser, A.B., Powers J.M. et al. (1982) The prenatal diagnosis of increased hexacosanoic acid levels in cultured amniocytes and fetal adrenal gland. *Ped. Res.* **16**, 172.
9. Brown B. I., Brown D.H. Branching (1989) enzyme activity of cultured amniocytes and chorionic villi: testing for type IV glycogen storage disease. *Amer. J. Hum. Genet.* **44**, 378.
10. Renlund, M., and Aula P. (1987) Prenatal detection of Salla disease based upon Increased free sialic acid in amniocytes. *Amer. J. Hum. Genet.* **28**, 377.
11. Epstein, C.J. (1982) The use of growth factors to stimulate the proliferation of amniotic fluid cells. *Methods in Cell Biology* **26**, 269.
12. Chang, H., Jones, O.W. (1982) Human amniotic fluid cells grown in a hormone-supplemented medium: Suitability for prenatal diagnosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **79**, 4795.
13. Biddle, W.C., Kuligowski, S., Filby, J., Custer-Hagen, T. and Lockwood, D.H. (1992) AmnioGrow Medium-C100: A new specialized cell culture medium for the propagation of human amniocytes. *Focus* **14**, 3.

Bestellinformation

Kat. Nr. Grösse

Amniochrome™ Plus

Komplette gebrauchsfertiges Medium zur Kultivierung von Primärkulturen aus Amnionflüssigkeit und zur Kultivierung von Chorionic Villi Zellen die in zytogenetischen Applikationen eingesetzt werden. Anwendung: für die *In Vitro* Diagnostik

Lagerbedingungen: unter -18°C

02-026E	100 ml
02-026F	500 ml

Amniochrome™ Pro

Komplette gebrauchsfertiges Medium zur Kultivierung von Primärkulturen aus Amnionflüssigkeit und zur Kultivierung von Chorionic Villi Zellen die in zytogenetischen Applikationen eingesetzt werden. Optimierte auf Wachstumsgeschwindigkeit. Anwendung: für die *In Vitro* Diagnostik

Lagerbedingungen: unter -18°C

02-035E	100 ml
02-035F	500 ml

Amniochrome™ II Modified Complete Medium System

Komplettes Mediensystem zur Kultivierung von Primärkulturen aus Amnionflüssigkeit und zur Kultivierung von Chorionic Villi Zellen die in zytogenetischen Applikationen eingesetzt werden. Anwendung: für die *In Vitro* Diagnostik

Lagerbedingungen: unter -18°C (7 ml oder 35 ml supplement)

2°C – 8°C (100 ml oder 500 ml Basal)

12-756EZM Amniochrome™ II Complete Medium System Modified (107 ml)

Lieferung als Einzelkomponenten:

12-756E	Amniochrome™ II Basal Medium	100 ml
17-524ZM	Amniochrome™ II Supplement Modified	7 ml

12-756FCM Amniochrome™ II Complete Medium System Modified (535 ml)

Lieferung als Einzelkomponenten:

12-756F	Amniochrome™ II Basal Medium	500 ml
17-524CM	Amniochrome™ II Supplement Modified	35 ml

Amniochrome™ ist ein Warenzeichen der CBM Intellectual Properties Inc.

Für weitere Informationen zu diesen oder anderen Lonza Verviers Produkten, kontaktieren Sie bitte unseren Technischen Services unter folgender Rufnummer: +32 87 32 16 11

E-Mail: techsup.europe@lonza.com

Sie können ebenfalls den für Sie zuständigen Außendienstmitarbeiter kontaktieren oder besuchen Sie unsere Internetseite www.lonza.com

Für *In Vitro* Diagnostic Use.

Achtung: Nicht für therapeutischen Einsatz an Mensch oder Tier. Die Verwendung des Produktes für ein anderes als auf dem Etikett angegebenes Einsatzgebiet kann gegen lokale Gesetze verstoßen

Hersteller
Lonza Verviers S.p.r.l.
Parc Industriel de Petit Rechain
B-4800 Verviers
Belgium

Die folgende Tabelle zeigt die verwendeten Symbole und Ihre Bedeutung:

Symbol	Bedeutung
	Katalognummer
	Chargennummer
	Verfallsdatum MM-TT
	Obergrenze der Lagertemperatur
	Lagertemperaturbereich
	<i>In vitro</i> diagnostisches Medizinprodukt
	Durch Filtration sterilisiert
	Hersteller
	Seriennummer