English

SAGE™
Warming Kit

For laboratory procedures only; other uses must be qualified by the end user.

Product Description	REF Number
1.0 M Sucrose Warming Solution	ART-8030-A
0.5 M Sucrose Warming Solution	ART-8030-B
MOPS Solution	ART-8030-C

CE 2797

INTENDED USE
These products are intended for the recovery of human embryos (pronuclear zygotes through day 3 cleavage stage embryos and blastocysts stage embryos) that have been vitrified using the SAGE™ Vitrification Kit (Ref # ART-8025). This kit is designed to be used in conjunction with the SAGE™ Vitrification Kit (ART-8025) for ultra-rapid freezing of specimens.

PRODUCT DESCRIPTION
1.0 M Sucrose Warming Solution (ART-8030-A) is a MOPS buffered solution of modified HTF containing non-essential and essential amino acids, gentamicin sulfate (10 mg/L), 1.0 M sucrose and 12 mg/mL human serum albumin.

0.5 M Sucrose Warming Solution (ART-8030-B) is a MOPS buffered solution of modified HTF containing non-essential and essential amino acids, gentamicin sulfate (10 mg/L), 0.5 M sucrose and 12 mg/mL human serum albumin.

MOPS Solution (ART-8030-C) is a MOPS buffered solution of modified HTF containing non-essential and essential amino acids, gentamicin sulfate (0.01 g/L) and 12 mg/mL human serum albumin.

This product contains 10mg/L of gentami-cin, an aminoglycoside antibiotic.

MATERIALS PROVIDED IN THE VITRIFICATION WARMING KIT
1 x 4 mL vial of 1.0 M Sucrose Warming Solution (REF ART-8030-A)

1 x 2 mL vial of 0.5 M Sucrose Warming Solution (REF ART-8030-B)

1 x 6 mL of MOPS Solution (REF ART-8030-C)

PRECAUTIONS AND WARNINGS
Warning: The long term safety of embryo(s) vitrification on children born from this procedure is unknown.

Caution: The safety and effectiveness of vitrification has not been fully evaluated in human embryos that have not yet reached the blastocyst stage of development. To date, live births have been reported from cleavage-stage embryos vitrified on day 3 of development (Desai et al., 2007) and clinical pregnancies have been established from vitrified zygotes (Selman & El-Danasouri, 2002).

Caution: The user should read and understand the Directions for Use, Precautions and Warnings, and be trained in the correct procedure before using the Vitrification and Vitrification Warming Kits for vitrification of human embryos.

The 1.0 M Sucrose Warming Solution (ART-8030-A) component in this kit contains 12 mg/mL human serum albumin.

The 0.5 M Sucrose Warming Solution (ART-8030-B) component in this kit contains 12 mg/mL human serum albumin.

The MOPS Solution (ART-8030-C) component in this kit contains 12 mg/mL human serum albumin.

This product contains the antibiotic gentamicin sulfate. Appropriate precautions should be taken to ensure that the patient is not sensitized to this antibiotic.

Caution: U.S. Federal law restricts this device to sale by or on the order of a physician or a practitioner trained in its use.

This product contains albumin, a derivative of human blood.

Caution: All blood products should be treated as potentially infectious. Source material from which this product was derived was found negative when testing for antibodies to HIV-1/HIV-2, HCV and non-reactive for HBsAg, HCV RNA and HIV-1 RNA. No known test methods can offer assurances that products derived from human blood will not transmit infectious agents. Donors of the source material have been screened for Creutzfeldt-Jacobs disease (CJD). Based on effective donor screening and product manufacturing processes, it carries an extremely remote risk for transmission of viral diseases. A theoretical risk for transmission of CJD is also considered extremely remote. No cases of transmission of viral diseases or CJD have ever been identified for albumin.

Standard measures to prevent infections resulting from the use of medicinal products prepared from human blood or plasma include selection of donors, screening of individual donations and plasma pools for specific markers of infection and the inclusion of effective manufacturing steps for the inactivation/removal of viruses. Despite this, when medicinal products prepared from human blood or plasma are administered, the possibility of transmitting infective agents cannot be totally excluded. This also applies to unknown or emerging viruses and other pathogens. There are no reports of proven virus transmissions with albumin manufactured to European Pharmacopoeia specifications by established processes.

Single use: To avoid problems with contamination, handle using aseptic techniques and discard any excess product that remains in the bottle or vial after procedure is completed.

Reproductive media products are intended for single use only. Re-use of reproductive media may result in using a product past its labeled expiration date or increase the risk of microbial contamination in a subsequent procedure if the practitioner fails to utilize adequate aseptic techniques.

Use of expired or microbial contaminated product may result in suboptimal conditions to promote fertilization and/or embryo quality during in-vitro culture. These conditions may result in the failure of the embryo to develop properly or to implant, potentially leading to a failed assisted reproductive procedure.

The products are aseptically processed and supplied sterile.

Note: Embryo is considered a general term. More precisely, SAGE™ considers the period of time initiating when a single diploid cell results from the fusion of male and female genome resulting in zygote formation with subsequent development from repeated mitotic divisions forming a solid mass or morula (typically day 4-5) and after which a fluid-filled cavity develops resulting in embryo formation (typically day 5-6) ending with embryo implantation that begins the end of the first week and is completed by the end of the second week post conception.

QUALITY ASSURANCE
The solutions in this kit are membrane filtered and aseptically processed according to cGMP procedures which have been validated to meet a sterility assurance level (SAL) of 10^{-3}.

One-cell MEA tested and passed with 80% or greater embryo. USP Endotoxin tested and passed with <1 EU/mL.

A Certificate of Analysis is available for this product.

MATERIALS REQUIRED BUT NOT INCLUDED
- Sterile Petri Dishes (50 x 9 mm, Falcon 351006 or equivalent) or 4-well multidishes (1 mL wells, Nunc 176740 or equivalent)
- Disposable gloves
- Transfer pipettes (pulled glass pipettes or micropipette tips) with an inner tip diameter of~ 200 µm
- Tweezers
- Scissors or scalpel
- Timer or stopwatch
- Liquid Nitrogen Reservoir (Dewar or Styrofoam container with lid, 1-2 L volume)
- Liquid Nitrogen (sufficient volume to cover the cryotube or goblet containing the vitrified blastocyst(s))
- Culture medium, eg Quinn's Advantage™ Protein Plus Blastocyst Medium (Ref ART-1529) prepared and pre-equilibrated in a culture dish prior to thawing specimens

DIRECTIONS FOR USE
SAGE™ Warming Kit components required for one embryo(s) warming procedure (maximum of 2 embryo(s) per procedure).
1.0 M Sucrose Warming Solution (1M WS): 20 µL to 1 mL
0.5 M Sucrose Warming Solution (0.5M WS): 40 µL to 1 mL
MOPS Solution (MS): 60 µL to 2 mL

WARMING AND DILUTION PROTOCOL:
The warming and dilution procedure is to be performed at 35 - 37 °C. Use a heated microscope stage for the following procedures. Minimize exposure of specimens to light during incubation in the Warming Solutions. Bring the solutions to 35 - 37 °C before use.

Refer to the enclosed directions for use that accompany the carrier device that has been used for specific instructions pertaining to that device.

A. Procedure using micro-drop volumes of solutions
1. Fill the liquid nitrogen reservoir with liquid nitrogen to a sufficient depth to completely submerge a cryotube or goblet containing the carrier device used and place near to the liquid nitrogen freezer containing the vitrified samples to be warmed.
   Remove the cryocanes with the goblets containing the carrier device with vitrified embryo(s) and quickly transfer them to the reservoir containing liquid nitrogen, keeping the carrier device under liquid nitrogen at all times.
2. Follow the instructions that accompany the carrier device that has been used.
3. Place the reservoir close to the microscope for rapid manipulation.
4. Label a sterile petri dish (or lid) with necessary information.
5. Make sure the contents of each vial of 1M WS, 0.5 M WS and MS are well mixed by gentle inversion several times before use.
6. Prepare the petri dish by aseptically dispensing one 20 µL drop of 1M WS and two 20 µL drops of 0.5M WS (see Fig 1, right). Three 20 µL drops of MS will be set up later at Step 12.
7. Using tweezers, locate the carrier device on the cane in the liquid nitrogen reservoir. Only one carrier device at a time is to be processed.
8. Carefully remove the carrier device from the cane, keeping the part containing the embryo(s) under the surface of the liquid nitrogen.
9. Follow the directions for use that accompany the carrier device used to immediately (within 2 seconds) immerse the device after it has been extracted from its protective covering into the drop of 1M WS. The embryo(s) will float from the device into the 1M WS. Leave the embryo(s) in this solution for one minute. The embryo(s) will shrink and float to the top of the drop.

Note: After each transfer of the embryo(s), blow out any remaining fluid in the transfer pipette and draw up some solution from the next drop prior to the next manipulation. Avoid creating bubbles during transfers.

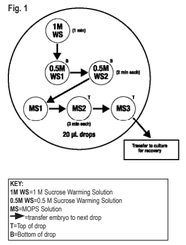
10. Draw up some 0.5M WS into the transfer pipette and transfer the embryo(s) from the drop of 1M WS with minimal volume to the bottom of the first drop of 0.5M WS for 2 minutes.
11. Then transfer the embryo(s) to the bottom of the second drop of 0.5M WS for 2 minutes.

Note: The embryo(s) will remain shrunken during exposure to 0.5M WS. During this time, set up three 20 µl drops of MOPS Solution (MS; MS1, MS2, MS3), as shown in Figure 1 (right).
12. Transfer the embryo(s) to the bottom of the first drop of MS (MS1) for 3 minutes.
13. Then transfer the embryo(s) to the top of the second drop of MS (MS2) for 3 minutes.
14. Transfer the embryo(s) to the top of the third drop of MS(MS3) for 3 minutes.
15. Finally, transfer the embryo(s) to a dish of pre-equilibrated appropriate culture medium and incubate in a CO_2 incubator at 37 °C for 3-4 hours to allow for further recovery prior to further manipulations and/or transfer.
16. If more embryos(s) are to be warmed, repeat steps 6 through 16 above, using fresh drops of the warming solutions

B. Procedure using larger volumes of solution in 4-well multidish

Note: Caution must be taken to avoid any contamination (e.g. microbial, patient, etc.) when using 4-well plates.

Fig. 1



1. Fill the liquid nitrogen reservoir with liquid nitrogen to a sufficient depth to completely submerge a cryotube or goblet containing the carrier device used and place near to the liquid nitrogen freezer containing the vitrified samples to be warmed.
   Remove the cryocanes with the goblets containing the carrier device with vitrified embryo(s) and quickly transfer them to the reservoir containing liquid nitrogen, keeping the carrier device under liquid nitrogen at all times.
2. Follow the instructions that accompany the carrier device that has been used.
3. Place the reservoir close to the microscope for rapid manipulation.
4. Label a sterile petri dish (or lid) with necessary information.
5. Make sure the contents of each vial of 1M WS, 0.5 M WS and MS are well mixed by gentle inversion several times before use.
6. Prepare the multiwell dish aseptically dispensing 1 mL of 1M WS into Well 1, 1 mL of 0.5M WS into Well 2 and 1 mL of MS into each of Wells 3 and 4 (see Fig 2).
8. Using tweezers, locate the carrier device on the cane in the liquid nitrogen reservoir. Only one carrier device at a time is to be processed.
9. Carefully remove the straw or other carrier device from the cane, keeping the lower part containing the embryo(s) under the surface of the liquid nitrogen.
10. Follow the Directions for Use that accompany the carrier device used to immediately (within 2 seconds) immerse the device after it has been extracted from its protective covering into Well 1 containing 1 mL of 1M WS. The embryo(s) will float from the device into the 1M WS. Leave the embryo(s) in this solution for one minute.
    The embryo(s) will shrink and float to the top of the well.

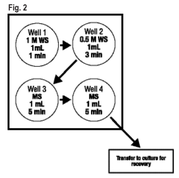
Note: After each transfer of the embryos, blow out any remaining fluid in the transfer pipet and draw up some solution from the next drop prior to the next manipulation. Avoid creating bubbles during transfers.

11. Draw up some 0.5M WS into the transfer pipet and transfer the embryo(s) from Well 1 to Well 2 containing 1 mL of 0.5M WS for 3 minutes.

Note: The embryo(s) will remain shrunken during exposure to 0.5M WS.

12. Then transfer the embryo(s) to the top of Well 3 containing 1 mL of MS for 5 minutes.
13. Next, transfer the embryo(s) to the top of Well 4 containing 1 mL of MS for 5 minutes.
14. Finally, transfer the embryo(s) to a dish of pre-equilibrated appropriate culture medium and incubate in a CO_2 incubator at 37 °C for 3-4 hours to allow for further recovery prior to further manipulations and/or transfer.
15. If more embryo(s) are to be warmed, repeat steps 8 through 14 immediately above using new solutions of 1M WS, 0.5M WS and MS.

Fig. 2



Each laboratory should make its own determination of the particular details to use for each particular procedure.

Information on specific aspects of IVF, embryo culture, and cryopreservation is available in our Product Catalog.

STORAGE INSTRUCTIONS AND STABILITY
Store unopened containers refrigerated at 2 °C to 8 °C. Warm to 35 - 37 °C prior to use. Do not freeze or expose to temperatures greater than 39 °C. The products are stable until the expiration date shown on the label.

1. Remove desired volume of product using aseptic procedures. One vial contains adequate volume of solution for single use only.
2. Once removed, do not return any volume of product to the original container. Discard remaining product.
3. Do not use if the product becomes discolored, cloudy, turbid, or shows any evidence of microbial contamination.

REFERENCES

1. Liebermann J, Tucker MJ. 2006 Comparison of vitrification and conventional cryopreservation of day 5 and day 6 blastocysts during clinical application. Fertil Steril 86:20-26.
2. Takahashi K, Mukaida T, Goto T, Oka C. 2005 Perinatal outcome of blastocyst transfer with vitrification using cryoloop: a 4-year follow-up study. Fertil Steril 84;88-92.
3. Raju GAR, Haranath GB, Krishna KM, et al. 2005 Vitrification of human 8-cell embryos, a modified protocol for better pregnancy rates. Reprod Biomed Online 11:434-437.
4. Hiraoka K, Hiraoka K, Kinutani M, et al. 2004 Blastocoele collapse by micropipetting prior to vitrification gives excellent survival and pregnancy outcomes for human day 5 and 6 expanded blastocysts. Human Reprod 2004, 19:2884-2888.
5. Stehlik E, Stehlik J, Katayama KP, et al. 2005 Vitrification demonstrates significant improvement versus slow freezing of human blastocysts. Reprod Biomed Online 11:53-57.
6. Vanderzwalmen P, Bertin G, Debauche Ch, et al. 2003 Vitrification of human blastocysts with the hemistraw carrier: application of assisted hatching after thawing. Human Reprod 18:1504-1511.
7. Kuwayama M, Vajta G, Leda S, et al. 2005 Comparison of open and closed methods for vitrification of human embryos and the elimination of potential contamination. Reprod Biomed Online 11:608-614.
8. Desai N, Blackmon H, Szeptycki J, et al. 2007 Cryoloop vitrification of human day 3 cleavage-stage embryos: post-vitrification development, pregnancy outcomes and live births. Reprod Biomed Online 14:208-213.
9. Selman HA, El-Danasouri I. 2002 Pregnancies derived from vitrified human zygotes. Fertil Steril 77:422-423.
10. Camus A, Clairaz P, Ersham A, et al. 2007 Comparison of the processes of five different Vitrification devices. Gynecol Obstet Fertil 34:737-745.

RELATED PRODUCTS
ART 8025 SAGE™ Vitrification Kit

SAGE In Vitro Fertilization™ has a full line of products for the Reproductive Medicine Specialist. Please call or write for specific information or to receive a copy of our current catalog. For technical questions, or to reach our Customer Service Department, call the SAGE™ Support Line.

Call the SAGE™ SUPPORT LINE:
In the U.S.: (800) 243-2974
International: (203) 601-9818

CooperSurgical, Inc.
95 Corporate Drive
Trumbull, CT 06611 USA

EC REP
ORIGIO a/s
Knardrupvej 2
2760 Måløv
Denmark
www.fertility.coopersurgical.com
Tel: +45 46 79 02 00

Customer Service:
E-mail: sales@coopersurgical.com

5655-05 ver. 5: 2021.Jun.17

EXPLANATION OF SYMBOLS

HAS — Contains: Human albumin solution.

GENT — Contains: Gentamicin.

Français

SAGE™
Warming Kit
(Kit de réchauffement après vitrification)

Réservé aux procédures en laboratoire uniquement ; tout autre usage doit être déterminé par l'utilisateur final.

Description du produit	Numéro de réf.
1.0 M Sucrose Warming Solution	ART-8030-A
0.5 M Sucrose Warming Solution	ART-8030-B
MOPS Solution	ART-8030-C

CE 2797

UTILISATION
Ces produits ont été développés pour le prélèvement d'embryons humains (zygotes en phase pronucléaire jusqu'aux embryons en phase de division au Jour 3 et embryons au stade blastocyste) ayant été vitrifiés à l'aide du kit SAGE™ Vitrification Kit (Ref # ART-8025). Ce kit a été conçu pour être utilisé avec le kit SAGE™ Vitrification Kit (ART-8025) pour la congélation ultrarapide de spécimens.

DESCRIPTION DU PRODUIT
La solution 1.0 M Sucrose Warming Solution (ART-8030-A) est une solution tamponnée MOPS d'HTF modifié contenant des acides aminés essentiels et non essentiels, du sulfate de gentamicine (10 mg/ml), du 1 M saccharose et 12 mg/ml d'albumine sérique humaine.
Le solution 0.5 M Sucrose Warming Solution (ART-8030-B) est une solution tamponnée MOPS d'HTF modifié contenant des acides aminés essentiels et non essentiels, du sulfate de gentamicine (10 mg/ml), du 0,5 M saccharose et 12 mg/ml d'albumine sérique humaine.

MOPS Solution (ART-8030-C) est la MOPS buffered solution de modified HTF containing non-essential and essential amino acids, gentamicin sulfate (0.01 g/L) and 12 mg/mL human serum albumin.

Ce produit contient 10 mg/l de gentami-cine, un antibiotique de la famille des aminoglycosides.

MATÉRIEL FOURNI DANS LE KIT DE RÉCHAUFFEMENT APRÈS VITRIFICATION
1 flacon de 4 ml de solution de réchauffement 1.0 M Sucrose Warming Solution (REF ART-8030-A)

1 flacon de 2 ml de solution de réchauffement 0.5 M Sucrose Warming Solution (REF ART-8030-B)

1 flacon de 6 ml de MOPS Solution (REF ART-8030-C)

PRÉCAUTIONS ET AVERTISSEMENTS
Avertissement : la sécurité à long terme des enfants nés grâce à cette procédure de vitrification d'embryon(s) n'est pas connue.

Attention : la sécurité et l'efficacité de la vitrification sur les embryons humains n'ayant pas atteint la phase blastocyste du développement n'ont pas été totalement évaluées. À ce jour, des naissances vivantes ont été obtenues à partir d'embryons en phase de division vitrifiés au Jour 3 du développement (Desai et al., 2007) et des grossesses cliniques ont été possibles grâce à des zygotes vitrifiés (Selman & El-Danasouri, 2002).

Attention : l'utilisateur doit lire et comprendre le Mode d'utilisation, les Précautions et avertissements et avoir bénéficié d'une formation relative à la procédure avant d'utiliser les kits de vitrification et de réchauffement après vitrification d'embryons humains.

Le composant 1.0 M Sucrose Warming Solution (ART-8030-A) de ce kit contient 12 mg/ml d'albumine sérique humaine.

Le composant 0.5 M Sucrose Warming Solution (ART-8030-B) de ce kit contient 12 mg/ml d'albumine sérique humaine.

Le composant MOPS Solution (ART-8030-C) de ce kit contient 12 mg/ml d'albumine sérique humaine.

Ce produit contient du sulfate de gentami-cine (un antibiotique). Des mesures appropriées doivent être prises pour s'assurer que les patients ne présentent aucune sensi- bilité à cet antibiotique.

Attention : d'après la législation fédérale des États-Unis, ce produit ne peut être vendu que par un médecin (ou par un autre praticien agréé) ou sur sa prescription.

Ce produit contient de l'albumine, un dérivé du sang humain.

Attention : tous les produits sanguins doivent être considérés comme potentiellement infectieux. Les composants sources dont ce produit est dérivé ont passé des analyses qui se sont révélées négatives pour les anticorps VIH-1/VIH-2, VHC et n'ont présenté aucune réaction aux AgHBs, ARN VHC et ARN VIH-1. Aucune méthode de test connue n'est en mesure de garantir que les produits dérivés de sang humain ne transmettront pas d'agents infectieux. Les donneurs des composants sources ont été soumis à un dépistage pour la maladie de Creutzfeldt-Jakob (MCJ). Le présent produit, dont l'élaboration s'appuie sur l'efficacité de l'évaluation des donneurs et des procédés de fabrication, présente un risque extrêmement marginal de transmission de maladies virales. Le risque de transmission théorique de la MCJ est également considéré comme très faible. Aucun cas de transmission de maladies virales ou de MCJ n'a été identifié concernant l'albumine.

Les mesures d'usage visant à éviter les infections dues à l'utilisation de produits médicinaux préparés à partir de sang ou de plasma humain incluent : la sélection des donneurs, la recherche de marqueurs d'infection spécifiques dans les dons individuels et dans les mélanges de plasma et l'inclusion d'étapes de fabrication efficaces afin d'inactiver et/ou d'éliminer les virus. Malgré ces précautions, il est impossible d'exclure totalement le risque de transmission d'agents infectieux lors de l'administration de produits médicinaux préparés à base de sang ou de plasma humain. Ce risque s'applique aussi aux virus et autres agents pathogènes inconnus ou émergents. Il n'a été fait état d'aucun cas de transmission virale avec de l'albumine fabriquée selon des procédés établis et conformément aux normes pharmaceutiques européennes.

Emploi unique : pour éviter les problèmes de contamination, employer des techniques aseptiques en utilisant ce produit et ne pas réutiliser l'excès du produit restant au fond des flacons à la fin de chaque procédure.

Les produits pour milieux de reproduction sont destinés à un usage unique seulement. La réutilisation des milieux de reproduction peut entraîner l'utilisation d'un produit au-delà de sa date limite d'utilisation ou augmenter le risque de contamination microbienne lors d'une procédure ultérieure si le praticien n'utilise pas de techniques adéquates d'asepsie.

L'usage de produit périmé ou à contamination microbienne risque d'entraîner des conditions sous-optimales pour la fertilisation et/ou la qualité de l'embryon au cours de la culture in vitro. Ces conditions peuvent empêcher le développement normal de l'embryon ou son implantation et risquent de mettre en échec la procédure de procréation médicalement assistée.

Les produits fournis suivent des procédés de fabrication aseptiques et sont fournis stériles.

Remarque : embryon est considéré comme un terme général. Plus précisément, SAGE™ considère que la période de temps débute lorsqu'une cellule diploïde est produite par la fusion d'un génome mâle et femelle, d'où la formation du zygote ; se poursuit par un développement dû à la répétition des divisions mitotiques qui permet la constitution d'une masse solide ou morula (généralement le 4e et 5e jour) et après laquelle se développe une cavité remplie de fluide qui aboutit à la formation de l'embryon (généralement le 5e et 6e jour) ; et se termine par l'implantation de l'embryon qui commence à la fin de la première semaine et s'achève à la fin de la deuxième semaine après la conception.

ASSURANCE DE QUALITÉ
Afin d'atteindre un niveau d'assurance de la stérilité de 10^{-3} SAL, les solutions de ce kit ont été filtrées à l'aide d'une membrane et traitées en milieu stérile, conformément aux procédures cGMP validées.

Produit testé selon la procédure MEA unicellulaire, avec un taux d'embryons satisfaisant supérieur ou égal à 80 %. Produit testé aux endotoxines selon USP avec un taux satisfaisant <1 EU/ml.

Un certificat d'analyse du produit est disponible.

MATÉRIEL NÉCESSAIRE NON FOURNI
- Boîtes de Petri stériles (Falcon 351006 50 x 9 mm ou équivalent) ou boîtes à quatre puits (Nunc 176740, puits de 1 ml ou équivalent)
- Gants jetables
- Pipettes de transfert (pipettes en verre ou embouts de micropipette) d'un diamètre intérieur d'environ 200 µm
- Précelles
- Ciseaux ou scalpel
- Minuteur ou chronomètre
- Réservoir d'azote liquide (réservoir Dewar ou Styrofoam avec couvercle, d'une capacité de 1 à 2 l)
- Azote liquide (volume suffisant pour recouvrir le tube de cryogénisation ou le récipient contenant le ou les blastocystes vitrifiés)
- Milieu de culture (Quinn's Advantage™ Protein Plus Blastocyst Medium [Ref # ART-1529] par exemple) préparé et prééquilibré dans une boîte de culture avant la décongélation des spécimens

MODE D'UTILISATION
Composants du kit de réchauffement après SAGE™ nécessaires pour une procédure de réchauffement d'embryon(s) (2 embryons maximum par procédure).
Solution 1.0 M Sucrose Warming Solution (1 M WS) : de 20 µl à 1 ml
Solution 0.5 M Sucrose Warming Solution (0.5M WS) : de 40 µl à 1 ml
MOPS Solution (MS) : de 60 µl à 2 ml

PROTOCOLE DE RÉCHAUFFEMENT ET DE DILUTION
La procédure de réchauffement et de dilution doit être effectuée à une température comprise entre 35 °C et 37 °C. Utiliser un platine de microscope chauffé pour les procédures suivantes. Minimiser l'exposition des spécimens à la lumière lors de l'incubation dans les solutions de réchauffement. Amener les solutions à une température comprise entre 35 °C et 37 °C avant emploi.

Se reporter au mode d'utilisation fourni avec le kit stérile de vitrification utilisé pour obtenir des instructions spécifique audit support.

A. Procédure pour l'utilisation de micro-gouttes de solution
1. Remplir suffisamment le réservoir d'azote liquide pour pouvoir immerger totalement le tube de cryogénisation ou le récipient contenant le support utilisé, puis le placer à proximité du congélateur d'azote liquide contenant les échantillons vitrifiés à réchauffer.
   Extraire les tiges de cryogénisation avec les récipients où se trouve le support contenant le ou les embryons vitrifiés, puis les transférer rapidement dans le réservoir d'azote liquide, en maintenant le support immergé en permanence dans l'azote liquide.
2. Suivre les instructions jointes au support utilisé.
3. Pour une manipulation rapide, placer le réservoir à proximité du microscope.
4. Placer sur une boîte de Pétri stérile (ou sur son couvercle) une étiquette contenant les informations nécessaires.
5. S'assurer que le contenu de chaque flacon de 1 M WS, 0.5 M WS et MS est correctement mélangé en agitant délicatement les flacons à plusieurs reprises avant emploi.
6. Préparer la boîte de Petri. Dans une atmosphère stérile, déposer une goutte de 20 µl de 1 M WS et deux gouttes de 20 µl de 0.5 M WS (voir schéma 1, à droite). Trois gouttes de 20 µl seront ultérieurement ajoutées, à l'étape 12.
7. À l'aide de précelles, localiser le support sur la tige placée dans le réservoir d'azote liquide. Ne pas traiter plus d'un support à la fois.
8. Extraire prudemment le support de la tige en maintenant la partie contenant le ou les embryons sous la surface de l'azote liquide.
9. Suivre le mode d'emploi fourni avec le support utilisé pour immerger immédiatement (dans un délai de 2 secondes) dans la goutte de 1 M WS, une fois qu'il a été extrait de son revêtement de protection. Le ou les embryons flotteront du support dans la goutte 1 M WS. Maintenir le ou les embryons dans la solution pendant une minute.
   Le ou les embryons rétrécissent et flotteront ensuite vers le haut de la goutte.

Remarque : après chaque transfert d'embryon(s), éliminer le liquide restant dans la pipette et aspirer un peu de solution de la goutte suivante avant la prochaine manipulation. Éviter la formation de bulles durant les transferts.

10. Aspirer de la solution 0.5 M WS dans la pipette de transfert, puis transférer le ou les embryons de la goutte de 1 M WS en en aspirant un volume minimal vers la première goutte de 0,5 M WS. Y maintenir les embryons pendant 2 minutes.
11. Placer ensuite le ou les embryons au fond de la seconde goutte de 0,5 M WS pendant 2 minutes.

Remarque : le ou les embryons garderont leur taille réduite durant l'exposition à la solution 0.5 M WS. Dans l'intervalle, placer trois gouttes de 20 µl de MOPS Solution (MS ; MS1, MS2, MS3) comme indiqué sur le schéma 1 (à droite).
12. Placer le ou les embryons au fond de la première goutte de MS (MS1) pendant 3 minutes.
13. Placer ensuite le ou les embryons dans la partie supérieure de la seconde goutte de MS (MS2) pendant 3 minutes.
14. Placer le ou les embryons dans la partie supérieure de la troisième goutte de MS (MS3) pendant 3 minutes.
15. Placer enfin le ou les embryons dans une boîte contenant un milieu de culture prééquilibré adapté et incuber dans un incubateur CO2 à 37 °C pendant 3 à 4 heures avant de les recueillir pour les manipulations et/ou transferts suivants.
16. Si davantage d'embryons doivent être réchauffés, répéter les étapes 6 à 16 ci-dessus en utilisant de nouvelles gouttes de solutions de réchauffement

B. Procédure pour l'utilisation de volumes plus importants de solution dans une boîte à 4 puits

Remarque : Faire preuve de prudence afin d'éviter toute contamination (microbienne, patient, etc.) lors de l'utilisation de boîtes à 4 puits.

1. Remplir suffisamment le réservoir d'azote liquide pour pouvoir immerger totalement le tube de cryogénisation ou le récipient contenant le support utilisé, puis le placer à proximité du congélateur d'azote liquide contenant les paillettes à réchauffer.
2. Extraire les tiges de cryogénisation avec les récipients où se trouve le support contenant le ou les embryons vitrifiés, puis les transférer rapidement dans le réservoir d'azote liquide, en maintenant le support immergé en permanence dans l'azote liquide.
3. Suivre les instructions jointes au support utilisé.
4. Pour une manipulation rapide, placer le réservoir à proximité du microscope.
5. Placer sur une boîte à 4 puits stérile une étiquette contenant les informations nécessaires.
6. S'assurer que le contenu de chaque flacon de 1 M WS, 0,5 M WS et MS est correctement mélangé en agitant délicatement les flacons à plusieurs reprises avant emploi.
7. Préparer la boîte à puits multiples en milieu stérile. Placer 1 ml de 1 M WS dans le puits 1, 1 ml de 0,5 M WS dans le puits 2 et 1 ml de MS dans les puits 3 et 4 (voir schéma 2, ci-dessous).
8. À l'aide de précelles, localiser le support sur la tige placée dans le réservoir d'azote liquide. Ne pas traiter plus d'un support à la fois.
9. Extraire prudemment la paillette (ou autre support) de la tige, en maintenant immergée la partie inférieure contenant le ou les embryons dans l'azote liquide.
10. Suivre le mode d'utilisation fourni avec le support utilisé pour l'immerger immédiatement (dans un délai de 2 secondes) dans le puits contenant 1 ml 1 M WS, une fois qu'il a été retiré de son revêtement protecteur. Le ou les embryons flotteront du support dans la goutte 1 M WS. Maintenir le ou les embryons dans cette solution pendant une minute.
    Le ou les embryons rétrécissent et flotteront ensuite vers le haut du puits.

Remarque : après chaque transfert des embryons, éliminer le liquide restant dans la pipette et aspirer un peu de solution de la goutte suivante avant la prochaine manipulation. Éviter la formation de bulles durant les transferts.

11. Aspirer un peu de solution 0.5 M WS dans la pipette de transfert, puis transférer le ou les embryons du puits 1 au puits 2 contenant 1 ml de 0.5 M WS pendant 3 minutes.

Remarque : le ou les embryons garderont leur taille réduite durant l'exposition à la solution 0,5 M WS.

12. Placer ensuite le ou les embryons dans la partie supérieure du puits 3 contenant 1 ml de MS pendant 5 minutes.
13. Placer ensuite le ou les embryons dans la partie supérieure du puits 4 contenant 1 ml de MS pendant 5 minutes.
14. Placer enfin le ou les embryons dans une boîte contenant un milieu de culture prééquilibré adapté et incuber dans un incubateur CO_2 à 37 °C pendant 3 à 4 heures avant de les recueillir pour les manipulations et/ou transferts suivants.
15. Si davantage d'embryons doivent être réchauffés, répéter les étapes 8 à 14 ci-dessus en utilisant des solutions 1 M WS, 0,5M WS et MS neuves.

Il revient à chaque laboratoire de déterminer les détails spécifiques qui conviennent pour chaque procédure particulière.

Des informations portant sur certains aspects spécifiques de la FIV, de la culture embryonnaire et la cryopréservation sont présentées dans notre catalogue des produits.

CONSIGNES DE STOCKAGE ET STABILITÉ
Conserver les flacons non ouverts au réfrigérateur entre 2 °C et 8 °C. Réchauffer à 37 °C avant emploi. Ne pas congeler, ni exposer à des températures supérieures à 39 °C. Les produits sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette.

1. Prélever le volume du produit souhaité en respectant les procédures aseptiques. Un flacon contient le volume de solution adapté à une seule utilisation.
2. Après prélèvement, ne pas reverser la moindre quantité de produit dans le flacon d'origine. Jeter le produit restant.
3. Ne pas utiliser si le produit devient décoloré, opaque, trouble, ou montre un quelconque signe de contamination microbienne.

RÉFÉRENCES

1. Liebermann J, Tucker MJ. Comparison of vitrification and conventional cryopreservation of day 5 and day 6 blastocysts during clinical application. Fertil Steril 2006, 86:20-26.
2. Takahashi K, Mukaida T, Goto T, Oka C. Perinatal outcome of blastocyst transfer with vitrification using cryoloop: a 4-year follow-up study. Fertil Steril 2005, 84;88-92.
3. Raju GAR, Haranath GB, Krishna KM, et al. Vitrification of human 8-cell embryos, a modified protocol for better pregnancy rates. Reprod Biomed Online 2005, 11:434-437.
4. Hiraoka K, Hiraoka K, Kinutani M, et al. Blastocoele collapse by micropipetting prior to vitrification gives excellent survival and pregnancy outcomes for human day 5 and 6 expanded blastocysts. Human Reprod 2004, 19:2884-2888.
5. Stehlik E, Stehlik J, Katayama KP, et al. Vitrification demonstrates significant improvement versus slow freezing of human blastocysts. Reprod Biomed Online 11:53-57.
6. Vanderzwalmen P, Bertin G, Debauche Ch, et al. Vitrification of human blastocysts with the hemistraw carrier: application of assisted hatching after thawing. Human Reprod 18;1504-1511.
7. Kuwayama M, Vajta G, Leda S, et al. 2005 Comparison of open and closed methods for vitrification of human embryos and the elimination of potential contamination. Reprod Biomed Online 11:608-614.
8. Desai N, Blackmon H, Szeptycki J, et al. 2007 Cryoloop vitrification of human day 3 cleavage-stage embryos: post-vitrification development, pregnancy outcomes and live births. Reprod Biomed Online 14:208-213.
9. Selman HA, El-Danasouri I. 2002 Pregnancies derived from vitrified human zygotes. Fertil Steril 77:422-423.
10. Camus A, Clairaz P, Ersham A, et al. 2007 Comparison of the processes of five different Vitrification devices. Gynecol Obstet Fertil 34:737-745.

AUTRES PRODUITS
ART 8025 SAGE™ Vitrification Kit

SAGE In Vitro Fertilization™ propose une gamme complète de produits destinés aux spécialistes de la médecine reproductive. Veuillez nous appeler ou nous écrire pour obtenir une information particulière ou un exemplaire de notre catalogue actuel. Pour les questions techniques ou pour joindre notre département de service clientèle, appelez la ligne d'assistance de SAGE™.

Appeler la LIGNE D'ASSISTANCE DE SAGE™ au numéro :
Aux États-Unis : (800) 243-2974
International : (203) 601-9818

CooperSurgical, Inc.
95 Corporate Drive
Trumbull, CT 06611 USA

EC REP
ORIGIO a/s
Knardrupvej 2
2760 Måløv
Denmark
www.fertility.coopersurgical.com
Tel: +45 46 79 02 00

Customer Service:
E-mail: sales@coopersurgical.com

5655-05 ver. 5: 2021.Jun.17

SIGNIFICATION DES SYMBOLES

HAS — Contient : Solution d'albumine humaine.

GENT — Contient: Gentamicine.

Deutsch

SAGE™
Warming Kit
(Erwärmungs-Kit für vitrifizierte Embryonen)

Nur für laboratorische Prozeduren; für andere Anwendungszwecke muss der Benutzer berechtigt sein.

Produktbeschreibung	Referenz nummer
1.0 M Sucrose Warming Solution	ART-8030-A
0.5 M Sucrose Warming Solution	ART-8030-B
MOPS Solution	ART-8030-C

CE 2797

**V

Italiano

SAGE™ Warming Kit

(Kit per riscaldamento/vetrificazione)

Solo per procedure di laboratorio; altri usi devono essere qualificati dal consumatore finale.

Descrizione del prodotto	REF Numero
1.0 M Sucrose Warming Solution	ART-8030-A
0.5 M Sucrose Warming Solution	ART-8030-B
MOPS Solution	ART-8030-C

CE 2797

USO PREVISTO

Questi prodotti sono destinati al recupero di embrioni umani (embrioni in fase di divisione zigoti pronucleari giorno 3 ed embrioni in fase di blastociti) vetrificati mediante il kit per vetrificazione SAGE™ (Ref N. ART-8025). Il kit è concepito per essere utilizzato insieme al kit per vitri-ficazione SAGE™ (ART-8025) per congelamento ultra-rapido di campioni.

DESCRIZIONE DEL PRODOTTO

Soluzione per riscaldamento con saccarosio 1,0 M

(ART-8030-A) è una soluzione HTF modi-ficata con MOPS buffer, contenente ammino-acidi non essenziali ed essenziali, solfato di gentamicina (10 mg/l), saccarosio 1,0 M e 12 mg/ml di albumina sierica umana. La soluzione per riscaldamento con saccarosio 0,5 M (ART-8030-B) è una soluzione HTF modificata con MOPS buffer, contenente amminoacidi non essenziali ed essenziali, solfato di gentamicina (10 mg/l), saccarosio 0,5 M e 12 mg/ml di albumina sierica umana.

La soluzione MOPS (ART-8030-C) è una soluzione HTF modificata con MOPS buffer, contenente amminoacidi non essenziali ed essenziali, solfato di gentamicina (0,01 g/l) e 12 mg/ml di albumina sierica umana.

Il prodotto contiene 10 mg/l di gentamicina, un antibiotico amminoglicosidico.

MATERIALI FORNITI CON IL KIT PER RISCALDAMENTO/VETRIFICAZIONE

1 x fiala da 4 ml di soluzione per riscaldamento con saccarosio 1,0 M (REF ART-8030-A)

1 x fiala da 2 ml di soluzione per riscaldamento con saccarosio 0,5 M (REF ART-8030-B)

1 x 6 ml di soluzione MOPS (REF ART-8030-C)

PRECAUZIONI E AVVERTENZE

Avviso: non è nota la sicurezza a lungo termine della vetrificazione degli embrioni per i bambini nati tramite questa procedura.

Attenzione: la sicurezza e l'efficacia della vetrificazione non sono state valutate completamente negli embrioni umani che non hanno ancora raggiunto la fase di sviluppo di blastociti. Finora, si sono registrate nascite da embrioni della fase di divisione vetrificati il giorno 3 dello sviluppo (Desai et al., 2007) e si sono verificate gravidanze cliniche da zigoti vetrificati (Selman & El-Danasouri, 2002).

Attenzione: l'utente deve leggere e comprendere le Istruzioni per l'uso, le Precauzioni e avvertenze ed essere adeguatamente formato sulla procedura corretta prima di utilizzare i kit per vetrificazione e per riscaldamento/ vetrificazione di embrioni umani.

Il componente soluzione per riscaldamento con saccarosio 1,0 M (ART-8030-A) in questo kit contiene 12 mg/ml di albumina sierica umana.

Il componente soluzione per riscaldamento con saccarosio 0,5 M (ART-8030-B) in questo kit contiene 12 mg/ml di albumina sierica umana.

Il componente soluzione MOPS (ART-8030-C) in questo kit contiene 12 mg/ml di albumina sierica umana.

Questo prodotto contiene l'antibiotico genta-mici-na solfato. Adottare le precauzioni necessarie per accertarsi che il paziente non sia sensibile/ allergico a questo antibiotico.

Attenzione: la legge federale degli Stati Uniti limita la vendita del presente dispositivo ai medici o su prescrizione medica o a un professionista adeguatamente formato.

Questo prodotto contiene albumina, un emoderivato umano.

Attenzione: tutti i prodotti di origine ematica devono essere trattati come potenzialmente infetti. Il materiale sorgente da cui deriva questo prodotto è risultato negativo al test degli anticorpi per HIV-1/HIV-2, HCV e non reattivo a HBsAg, HCV RNA e HIV-1 RNA. Nessun metodo di analisi noto è in grado di garantire che i prodotti derivati dal sangue umano non trasmettano agenti infettivi. I donatori del materiale sorgente sono stati esaminati per la malattia di Creutzfeldt-Jakob (CJD). In base a processi efficaci di screening dei donatori e di produzione del prodotto, il rischio di trasmissione di malattie virali è estremamente remoto, come il rischio teorico di trasmissione di CJD. Per l'albumina non sono mai stati identificati casi di trasmissione di malattie virali o CJD.

Le misure standard per evitare le infezioni causate dall'uso di prodotti medicinali preparati da sangue o plasma umano includono la selezione dei donatori, lo screening di specifici indicatori di infezione nelle singole donazioni e pool di plasma, nonché l'inclusione di passaggi di produzione efficaci per la disattivazione o la rimozione dei virus. Nonostante queste misure, nella somministrazione dei prodotti medicinali preparati da sangue o plasma umano, la possibilità di trasmissione di agenti infettivi non può essere esclusa completamente. Tale possibilità vale anche per virus e altri agenti patogeni sconosciuti o nuovi. Non sono disponibili registrazioni/segnalazioni di trasmissione comprovata di virus con l'albumina prodotta secondo le specifiche della EP (European Pharmacopoeia, Farmacopea Europea) tramite processi standardizzati.

Monouso: per evitare problemi di contamin-azione, manipolare con tecniche asettiche ed eliminare il prodotto in eccesso rimanente nel flacone o nella fiala al termine della procedura.

I prodotti per terreni di coltura destinati alla fecondazione in vitro sono monouso. Il riutilizzo dei terreni di coltura può determin-are l'impiego di prodotti dopo la data di scadenza indicata sull'etichetta oppure l'aumento del rischio di contaminazione microbica in una procedura successiva se lo specialista non utilizza le tecniche asettiche adeguate.

L'utilizzo di prodotti scaduti o con contamin-azione microbica può dar luogo a condizioni non ottimali per la fecondazione e/o la qualità dell'embrione durante la coltura in vitro. Tali condizioni possono provocare il mancato sviluppo dell'embrione in maniera adeguata oppure l'impianto, portando potenzialmente al fallimento della procedura di fecondazione assistita.

I prodotti sono preparati in condizioni asettiche e vengono forniti sterili.

Nota: embrione è considerato un termine generale. Più precisamente, secondo SAGE™ identifica il periodo che inizia quando dalla fusione del genoma maschile e femminile deriva una singola cellula diploide creando lo zigote con successivo sviluppo dalla divisione mitotica ripetuta e formazione di una massa solida o morula (solitamente giorno 4-5). In seguito si sviluppa una cavità piena di liquido che forma blastociti (solitamente giorno 5-6). Il periodo si conclude con l'impianto dell'embrione che inizia alla fine della prima settimana e si completa alla fine della seconda settimana dopo il concepimento.

GARANZIA DI QUALITÀ

Le soluzioni in questo kit sono state soggette a filtrazione su membrana e vengono lavorate asetticamente in conformità alle procedure cGMP che sono state convalidate per soddis-fare un livello di garanzia di sterilità (SAL) di 10^{-3}.

Test MEA su cellula singola superato con l'80% o più di embrioni. Test per le endo-tossine USP superato con < 1 EU/ml.

Per questo prodotto è disponibile un certificato di analisi.

MATERIALI NECESSARI MA NON INCLUSI

- Piastre di Petri sterili (50 x 9 mm, Falcon 351006 o equivalente) o multipiastre a 4 pozzetti (pozzetti da 1 ml, Nunc 176740 o equivalente)
- Guanti monouso
- Pipette di trasferimento (pipette in vetro riempite o punte di micropipette) con un diametro interno della punta di ~200 µm
- Pinze
- Forbici o bisturi
- Timer o cronometro
- Contenitore di azoto liquido (vaso di Dewar o in Styrofoam con coperchio, volume di 1-2 l)
- Azoto liquido (volume sufficiente per coprire la crioprovetta o il bicchiere contenente le blastociti vetrificate)
- Terreno di coltura, ad es. Quinn's Advantage™ Protein Plus Blastocyst Medium (Ref N. ART-1529) preparato e pre-equilibrato in una piastra per coltura prima di scongelare i campioni

ISTRUZIONI PER L'USO

Componenti del kit per riscaldamento/vetrificazione SAGE™ richiesti per una procedura di riscaldamento degli embrioni (massimo 2 embrioni per procedura).

Soluzione per riscaldamento con sacca-rosio 1,0 M (1 M WS): da 20 µl a 1 ml

Soluzione per riscaldamento con sacca-rosio 0,5 M (0.5 M WS): da 40 µl a 1 ml

Soluzione MOPS (MS): da 60 µl a 2 ml

PROTOCOLLO DI RISCALDAMENTO E DILUIZIONE:

La procedura di riscaldamento e diluizione deve essere eseguita a 35-37 °C. Utilizzare una fase di microscopia con riscaldamento per le seguenti procedure. Ridurre al minimo l'esposizione dei campioni alla luce durante l'incubazione nelle soluzioni di riscaldamento. Portare le soluzioni a 35-37 °C prima dell'uso.

Per informazioni specifiche relative al dispositivo, fare riferimento alle Istruzioni per l'uso allegate al dispositivo per trasporto utilizzato.

A. Procedura tramite volumi di microgocce delle soluzioni

1. Riempire di azoto liquido l'apposito contenitore fino a un livello che consente di immergere completamente una criopro-vetta o un bicchiere contenente il disposi-tivo per trasporto utilizzato e posizionare vicino al frigorifero ad azoto liquido contenente i campioni vetrificati da riscaldare.

   Rimuovere i criocontenitori con i bicchieri contenenti il dispositivo per trasporto e gli embrioni vetrificati, quindi trasferire velocemente nel contenitore di azoto liquido tenendo sempre il dispositivo per trasporto nell'azoto liquido.
2. Seguire le istruzioni allegate al dispositivo per trasporto utilizzato.
3. Posizionare il contenitore accanto al microscopio per consentire una manipolazione rapida.
4. Etichettare una piastra Petri sterile (o coperchio) con le informazioni necessarie.
5. Accertarsi che il contenuto di ogni fiala di soluzioni ES e VS sia mescolato adeguatamente per inversione diverse volte prima dell'uso.
6. Preparare la piastra Petri erogando con tecnica asettica una goccia da 20 µl di WS 1 M e due gocce da 20 µl di WS 0,5 M (vedere fig. 1, a destra). Tre gocce da 20 µl di MS verranno preparate successivamente al passaggio 12.
7. Utilizzando le pinze, posizionare il disposi-tivo per trasporto sul contenitore nel serbatoio di azoto liquido. È possibile trattare un solo dispositivo per trasporto alla volta.
8. Rimuovere con cura il dispositivo per trasporto dal contenitore, tenendo la parte contenente gli embrioni al di sotto della superficie dell'azoto liquido.
9. Seguire le Istruzioni per l'uso allegate al dispositivo per trasporto utilizzato per immergere immediatamente (entro 2 secondi) il dispositivo, dopo averlo estratto dalla copertura protettiva, nella goccia di WS 1 M. Gli embrioni passano dal dispositivo in WS 1 M. Lasciare gli embrioni in questa soluzione per un minuto. Le dimensioni degli embrioni si riducono e questi ultimi passano nella parte superiore della goccia.

Nota: dopo ogni trasferimento di embrioni, rimuovere il liquido rimanente nella pipetta di trasferimento e prelevare parte della soluzione dalla goccia successiva prima di procedere con la manipolazione successiva. Evitare la formazione di bolle durante i trasferimenti.

10. Prelevare parte di WS 0,5 M nella pipetta di trasferimento e trasferire gli embrioni dalla goccia di WS 1 M con volume minimo sul fondo della prima goccia di WS 0,5 M e lasciare riposare per 2 minuti.
11. Quindi trasferire gli embrioni sul fondo della seconda goccia di WS 0,5 M per 2 minuti.

Nota: le dimensioni degli embrioni rimangono ridotte durante l'esposizione a 0,5 M WS. In questo intervallo, preparare tre gocce da 20 µl di soluzione MOPS (MS; MS1, MS2, MS3), come mostrato nella figura 1 (a destra).

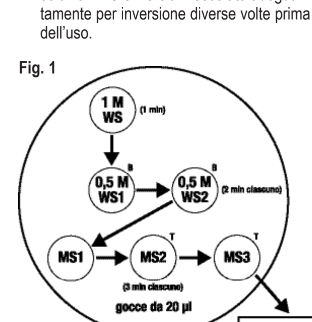
12. Trasferire gli embrioni sul fondo della prima goccia di MS (MS1) per 3 minuti.
13. Quindi trasferire gli embrioni nella parte superiore della seconda goccia di MS (MS2) per 3 minuti.
14. Trasferire gli embrioni nella parte superiore della terza goccia di MS (MS3) per 3 minuti.
15. Infine trasferire gli embrioni in una piastra di terreno di coltura appropriato pre-equilibrato e introdurli in un incubatore a CO_2 a 37 °C per 3-4 ore, in modo da consentire un ulteriore recupero prima di altre manipolazioni e/o trasferimento.
16. Se devono essere riscaldati più embrioni, ripetere i precedenti passaggi da 6 a 16, utilizzando gocce fresche di soluzioni per riscaldamento.

B. Procedura tramite volumi maggiori di soluzione in una multipiastra a 4 pozzetti

Nota: prestare attenzione a evitare contaminazioni (ad es. microbica, da paziente, ecc.) quando si utilizzano piastre a 4 pozzetti.

1. Riempire di azoto liquido l'apposito contenitore fino a un livello che consente di immergere completamente una crioprovetta o un bicchiere contenente il dispositivo per trasporto utilizzato e posizionare vicino al frigorifero ad azoto liquido contenente le cannucce/i capillari da riscaldare.
2. Rimuovere i criocontenitori con i bicchieri contenenti il dispositivo per trasporto e gli embrioni vetrificati, quindi trasferire velocemente nel contenitore di azoto liquido tenendo sempre il dispositivo per trasporto nell'azoto liquido.
3. Seguire le istruzioni allegate al dispositivo per trasporto utilizzato.
4. Posizionare il contenitore accanto al micro-scopio per consentire una manipolazione rapida.
5. Etichettare una multipiastra a 4 pozzetti sterile con le informazioni necessarie.
6. Accertarsi che il contenuto di ogni fiala di soluzioni ES e VS sia mescolato adeguatamente per inversione diverse volte prima dell'uso.

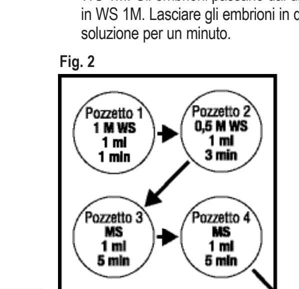
Fig. 1



LEGENDA:
1 M WS = soluzione per riscaldamento con saccarosio 1 M
0,5 M WS = soluzione per riscaldamento con saccarosio 0,5 M
MS = soluzione MOPS
→ = trasferire l'embrione alla goccia successiva (transfer embryo to next drop)
T = parte superiore della goccia (Top of drop)
B = fondo della goccia (Bottom of drop)

7. Preparare la piastra multipozzetto erogando in modo asettico 1 ml di WS 1 M nel pozzetto 1, 1 ml di WS 0,5 M nel pozzetto 2 e 1 ml di MS ciascuno nei pozzetti 3 e 4 (vedere fig. 2).
8. Utilizzando le pinze, posizionare il disposi-tivo per trasporto sul contenitore nel serbatoio di azoto liquido. È possibile trattare un solo dispositivo per trasporto alla volta.
9. Rimuovere con cura il capillare o un altro dispositivo per trasporto dal conteni-tore, tenendo la parte inferiore contenente gli embrioni al di sotto della superficie dell'azoto liquido.
10. Seguire le Istruzioni per l'uso allegate al dispositivo per trasporto utilizzato per immergere immediatamente (entro 2 secondi) il dispositivo dopo averlo estratto dalla copertura protettiva nel pozzetto 1 contenente 1 ml di WS 1M. Gli embrioni passano dal dispositivo in WS 1M. Lasciare gli embrioni in questa soluzione per un minuto.

Fig. 2



LEGENDA:
1 M WS = soluzione per riscaldamento con saccarosio 1 M
0,5 M WS = soluzione per riscaldamento con saccarosio 0,5 M
MS = soluzione MOPS
→ = trasferire l'embrione al pozzetto successivo (transfer embryo to next well)

Le dimensioni degli embrioni si riducono e questi ultimi passano nella parte superiore del pozzetto.

Nota: dopo ogni trasferimento di embrioni, rimuovere il liquido rimanente nella pipetta di trasferimento e prelevare parte della soluzione dalla goccia successiva prima di procedere con la manipolazione successiva. Evitare la formazione di bolle durante i trasferimenti.

11. Prelevare parte di WS 0,5 M nella pipetta di trasferimento e trasferire gli embrioni dal pozzetto 1 al pozzetto 2 contenente 1 ml di WS 0,5 M per 3 minuti.

Nota: le dimensioni degli embrioni rimangono ridotte durante l'esposizione a 0,5 M WS.

12. Trasferire gli embrioni nella parte superiore del pozzetto 3 contenente 1 ml di MS per 5 minuti.
13. Quindi trasferire gli embrioni nella parte superiore del pozzetto 4 contenente 1 ml di MS per 5 minuti.
14. Infine trasferire gli embrioni in una piastra di terreno di coltura appropriato pre-equilibrato e introdurli in un incubatore a CO_2 a 37 °C per 3-4 ore, in modo da consentire un ulteriore recupero prima di altre manipolazioni e/o trasferimento.
15. Se devono essere riscaldati più embrioni, ripetere i precedenti passaggi da 8 a 14, utilizzando nuove soluzioni di WS 1 M, WS 0,5 M e MS.

Ogni laboratorio deve stabilire quale mezzo usare per ogni singolo procedimento.

Informazioni su specifici aspetti di IVF, coltura embrionale e crioconservazione sono disponibili nel nostro catalogo prodotti.

INFORMAZIONI SU CONSERVAZIONE E STABILITÀ

Conservare i contenitori chiusi tra 2 e 8 °C. Prima dell'uso riscaldarli a 35-37 °C. Non congelare o esporre a temperature superiori a 39 °C. I prodotti sono stabili fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta.

1. Rimuovere il volume desiderato del prodotto usando procedimenti asettici. Una fiala contiene il volume di soluzione sufficiente per un uso singolo.
2. Una volta rimosso, non reintrodurre l'eventuale prodotto rimanente nel contenitore originale. Eliminare il prodotto rimanente.
3. Non usare il prodotto se presenta segni di decolorazione, opacità, torbidità o evidenze di contaminazione microbica.

BIBLIOGRAFIA

1. Liebermann J, Tucker MJ. 2006 Comparison of vitrification and conventional cryopreservation of day 5 and day 6 blastocysts during clinical application. Fertil Steril 86:20-26.
2. Takahashi K, Mukaida T, Goto T, Oka C. 2005 Perinatal outcome of blastocyst transfer with vitrification using cryoloop: a 4-year follow-up study. Fertil Steril 84; 88-92.
3. Raju GAR, Haranath GB, Krishna KM, et al. 2005 Vitrification of human 8-cell embryos, a modified protocol for better pregnancy rates. Reprod Biomed Online 11:434-437.
4. Hiraoka K, Hiraoka K, Kinutani M, et al. 2004 Blastocoele collapse by micropipetting prior to vitrification gives excellent survival and pregnancy outcomes for human day 5 and 6 expanded blastocysts. Human Reprod 19:2884-2888.
5. Stehlik E, Stehlik J, Katayama KP, et al. 2005 Vitrification demonstrates significant improvement versus slow freezing of human blastocysts. Reprod Biomed Online 11:53-57.
6. Vanderzwalmen P, Bertin G, Debauche Ch, et al. 2003 Vitrification of human blastocysts with the hemistraw carrier: application of assisted hatching after thawing. Human Reprod 18:1504-1511.
7. Kuwayama M, Vajta G, Leda S, et al. 2005 Comparison of open and closed methods for vitrification of human embryos and the elimination of potential contamination. Reprod Biomed Online 11:608-614.
8. Desai N, Blackmon H, Szeptycki J, et al. 2007 Cryoloop vitrification of human day 3 cleavage-stage embryos: post- vitrifcation development, pregnancy outcomes and live births. Reprod Biomed Online 14:208-213.
9. Selman HA, El-Danasouri I. 2002 Pregnancies derived from vitrified human zygotes. Fertil Steril 77:422-423.
10. Camus A, Clairaz P, Ersham A, et al. 2007 Comparison of the processes of five different Vitrification devices. Gynecol Obstet Fertil 34:737-745.

PRODOTTI CORRELATI

ART 8025 SAGE™ Vitrification Kit

SAGE In Vitro Fertilization™ offre una gamma completa di prodotti per specialisti in medicina riproduttiva. Chiamare o scrivere per informazioni specifiche o per ricevere una copia del nostro catalogo aggiornato. Per domande tecniche o per contattare il nostro servizio clienti, chiamare l'assistenza telefonica SAGE™.

Chiamare la LINEA DI ASSISTENZA SAGE™ ai seguenti numeri:
Stati Uniti: (800) 243-2974
Internazionale: (203) 601-9818

LEGENDA SIMBOLI

HAS — Contiene: soluzione di albumina umana.

GENT — Contiene: gentamicina.

CooperSurgical, Inc.
95 Corporate Drive
Trumbull, CT 06611 USA

EC REP
ORIGIO a/s
Knardrupvej 2
2760 Måløv
Denmark
www.fertility.coopersurgical.com
Tel: +45 46 79 02 00

Customer Service:
E-mail: sales@coopersurgical.com

Español

SAGE™ Warming Kit

(Kit de calentamiento para vitrificación)

Para procesos en laboratorio solamente. Otros usos en función del usuario final.

Descripción	REF Número
1.0 M Sucrose Warming Solution	ART-8030-A
0.5 M Sucrose Warming Solution	ART-8030-B
MOPS Solution	ART-8030-C

CE 2797

APLICACIONES

Estos productos se utilizan para la recupe-ración de embriones humanos (cigotos pronucleares en el día 3, embriones en la fase de clivaje y embriones en la fase de blastocitos) que hayan sido vitrificados con el SAGE™ Vitrification Kit (kit de vitrificación de FIV de SAGE™) (Ref. # ART-8025). Este kit está diseñado para su uso en conjunto con el SAGE™ Vitrification Kit (kit de vitrificación de SAGE™) (ART-8025) para la congelación ultrarrápida de especímenes.

DESCRIPCIÓN

Solución de calentamiento sacarosa de 1.0 M

(ART-8030-A) es una solución con tampón MOPS de HTF modificado que contiene aminoácidos esenciales y no esenciales, sulfato de gentamicina (10 mg/L), sacarosa de 1.0 M y 12 mg/ml de seroalbúmina humana. La Sucrose Warming Solution (solución de calentamiento sacarosa) de 0.5 M (ART-8030-B) es una solución con tampón MOPS de HTF modificado que contiene aminoácidos esenciales y no esenciales, sulfato de gentamicina (10 mg/l), sacarosa de 0.5 M y 12 mg/ml de seroalbúmina humana.

La solución MOPS (ART-8030-C) es una solución con tampón MOPS de HTF modificado que contiene aminoácidos esenciales y no esenciales, sulfato de gentamicina (0,01 g/L) y 12 mg/ml de seroalbúmina humana.

Este producto contiene 10 mg/L de gentami-cina, un antibiótico aminoglucósido.

MATERIALES INCLUIDOS EN EL KIT DE CALENTAMIENTO PARA VITRIFICACIÓN

Vía de 1 x 4 ml de la Sucrose Warming Solution (solución de calentamiento saca-rosa) de 1.0 M (REF. ART-8030-A)

Vía de 1 x 2 ml de la Sucrose Warming Solution (solución de calentamiento saca-rosa) de 0.5 M (REF. ART-8030-B)

1 x 6 ml de solución MOPS (REF. ART-8030-C)

PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

Advertencia: no se conoce la seguridad a largo plazo de los bebés que nacen como resultado de la vitrificación de embriones.

Advertencia: no se ha evaluado completamente la seguridad y eficacia de la vitrifica-ción en embriones humanos que no hayan alcanzado la fase de desarrollo de blastocito. Hasta la fecha, se han informado nacimientos de embriones en fase de clivaje vitrificados al tercer día de desarrollo (Desai et al., 2007) y se han establecido embarazos clínicos de la vitrificación de cigotos (Selman & El-Danasouri, 2002).

Advertencia: el usuario debe leer y compren-der las instrucciones de uso, las precauciones y advertencias, y debe instruirse para proce-der de manera correcta antes de utilizar los kits de vitrificación y de calentamiento para vitrificación en el proceso de vitrificación de embriones humanos.

El componente de la Sucrose Warming Solution (solución de calentamiento saca-rosa) de 1.0 M (ART-8030-A) en este kit contiene 12 mg/ml de seroalbúmina humana.

El componente de la Sucrose Warming Solution (solución de calentamiento sacarosa) de 0.5 M (ART-8030-B) en este kit contiene 12 mg/ml de seroalbúmina humana.

El componente de la solución MOPS (ART-8030-C) en este kit contiene 12 mg/ml de seroalbúmina humana.

Este producto contiene el antibiótico sulfato de gentamicina. Se deben tomar las precauciones adecuadas para asegurarse de que el paciente no sea alérgico a este antibiótico.

Advertencia: las leyes federales de EE.UU. restringen la venta o la prescripción de este producto a realizarse por médicos (o profesionales autorizados de la medicina).

Este producto contiene albúmina, un derivado de la sangre humana.

Advertencia: todos los productos sanguí- neos deben considerarse potencialmente infecciosos. Al evaluar el material del cual se obtuvo este producto, el resultado fue negativo respecto de los anticuerpos VIH-1/VIH-2, HCV y no reactivo para HBsAg, HCV ARN y VIH-1 RNA. No se conocen métodos de prueba que puedan garantizar que los productos derivados de la sangre humana no transmitirán agentes infecciosos. Se realizó un cribado de los donantes respecto de la enfermedad de Creutzfeldt-Jacobs (CJD). Dada la efectividad del cribado de los donantes y de los procesos de fabricación del producto, el riesgo de transmisión de enfermedades venéreas es extremadamente remoto. El riesgo teórico de transmisión de CJD también se considera muy remoto. Para la albúmina, nunca se han identificado casos de transmisión de enfermedades víricas ni de CJD.

Entre las precauciones estándar para prevenir infecciones causadas por el uso de productos medicinales preparados a base de sangre humana o plasma se incluyen: selección de donantes, cribado de donaciones indivi- duales y depósitos de plasma en busca de marcadores de infecciones específicos, e incorporación de pasos efectivos en el proceso de fabricación para desactivar o eliminar virus. Incluso teniendo en cuenta estas precauciones, no se puede descartar por completo la posibilidad de transmisión de agentes patógenos cuando se administran productos medicinales preparados a base de sangre humana o plasma. Esto también hace referencia a virus u otros agentes patógenos desconocidos o de reciente aparición. No se han detectado transmisiones de virus demostradas cuya causa sea la albúmina fabricada de acuerdo con las especificaciones de la Farmacopea europea y por medio de los procesos de elaboración establecidos.

Un solo uso: para evitar problemas de con-taminación deben utilizarse técnicas asépticas y desechar el producto excedente que permanece en la botella o en la vía al terminar la intervención.

Los productos de medios de reproducción solo se pueden utilizar una vez. Si reutiliza estos productos, puede ocurrir que use un producto luego de su fecha de vencimiento o puede ocasionar un aumento del riesgo de contaminación microbiana en un procedi-miento posterior, si el médico no utiliza las técnicas asépticas adecuadas.

El uso de un producto con contaminación microbiana o vencido puede resultar en condiciones no óptimas para la estimulación de la fertilización o la calidad del embrión durante el cultivo in vitro. Estas condiciones pueden ocasionar que el embrión no se desarrolle correctamente o no se pueda implantar, lo que conlleva a que no se logre un procedimiento de reproducción asistida exitoso.

Los productos se procesan en condiciones asépticas y se suministran estériles.

Nota: "embrión" se considera como término general. Más exactamente, SAGE™ considera como inicio del plazo el surgimiento de una sola célula diploide de la fusión de genoma masculino y femenino cuyo resultado es la formación de un cigoto con el consecuente desarrollo de repetidas divisiones mitóticas que conforman una masa sólida o mórula (típicamente en el 4to. - 5to. día) y tras el cual se desarrolla una cavidad llena de fluido que da lugar a la formación del embrión (típicamente en el 5to. - 6to. día) y que termina con la implantación del embrión, que empieza al final de la primera semana y que se completa al final de la segunda semana después de la concepción.

CONTROL DE CALIDAD

Las soluciones de este kit fueron filtradas por membrana y procesadas asépticamente según los procedimientos de cGMP que han sido validados para que cumplan con un nivel de garantía de esterilidad (NGE) de 10^{-3}.

MEA unicelular probada y superada con un 80% o más de embriones. Endotoxinas de la USP probadas y aprobadas con <1 EU/ml.

Existe un Certificado de análisis disponible para este producto.

MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

- Platos estériles Petri (50 x 9 mm, Falcon 351006 o equivalente) o platos con 4 multipocillos (pocillos de 1 ml, Nunc 176740 o equivalente)
- Guantes desechables
- Pipetas para transferencias (pipetas de vidrio soplado o puntas para micropipetas con un diámetro interior de ~ 200 µm)
- Pinzas
- Tijeras o escalpelo
- Cronómetro o temporizador
- Depósito de nitrógeno líquido (contenedor dewar o poliestireno con tapa, volumen de 1 a 2 L)
- Nitrógeno líquido (volumen suficiente para cubrir el criotubo o la copa que contiene los blastocitos vitrificados)
- Medio de cultivo, por ej., Quinn's Advantage™ Protein Plus Blastocyst Medium (medio para blastocitos Quinn's Advantage Protein Plus) (Ref. # ART-1529) preparado y pre-equilibrado en un plato de cultivo antes de descongelar los especímenes

MODO DE EMPLEO

Componentes del kit de calentamiento SAGE™ para vitrificación requeridos para un procedimiento de calentamiento de embriones (máximo de 2 embriones por procedimiento).

Solución de calentamiento sacarosa de 1.0 M (1 M WS): 20 µl a 1 ml

Solución de calentamiento sacarosa de 0.5 M (0.5 M WS): 40 µl a 1 ml

Solución MOPS (MS): 60 µl a 2 ml

PROTOCOLO DE CALENTAMIENTO Y DILUCIÓN:

El procedimiento de calentamiento y dilución se realiza entre 35 y 37 °C. Utilizar una platina de microscopio caliente para los siguientes procedimientos. Minimizar la exposición de los especímenes a la luz durante la incubación en las soluciones de calentamiento. Llevar las soluciones a 35 o 37 °C antes de utilizarlas.

Consultar las instrucciones de uso del dispositivo de traslado.

A. Procedimiento con volúmenes de las soluciones en microgotas

1. Llenar el depósito con nitrógeno líquido hasta lograr una profundidad suficiente como para sumergir completamente un criotubo o una copa con el dispositivo de traslado y ubicarlo cerca del congelador de nitrógeno líquido que contiene las muestras vitrificadas para calentar.

   Quitar las criocañas con las copas que contienen el dispositivo de traslado con los embriones vitrificados y transferirlos rápidamente al reservorio de nitrógeno líquido, manteniendo el dispositivo de traslado sumergido en nitrógeno líquido todo el tiempo.
2. Seguir las instrucciones que trae el dispositivo de traslado que se ha utilizado.
3. Colocar el depósito cerca del microscopio para manipularlo rápidamente.
4. Etiquetar un plato estéril Petri (o una tapa) con la información necesaria.
5. Asegurarse de que el contenido de cada vía WS de 1 M, WS de 0.5 M y MS esté bien mezclado invirtiéndolo varias veces con cuidado antes de usarlo.
6. Preparar el plato Petri con una gota de 20 µl de WS de 1 M y dos gotas de 20 µl de WS de 0.5 M (ver Fig. 1, derecha). En el Paso 12 se preparan gotas de 20 µl de MS.
7. Colocar el dispositivo de traslado de la caña en el depósito de nitrógeno líquido usando unas pinzas. Se debe procesar un dispositivo de traslado a la vez.
8. Retirar cuidadosamente el dispositivo de traslado de la caña manteniendo la parte que contiene los embriones sumergida en nitrógeno líquido.
9. Seguir las instrucciones de uso que trae el dispositivo de traslado utilizado para sumergirlo, inmediatamente (dentro de los 2 segundos) después de haberlo extraído de la cubierta protectora, en la gota de WS de 1 M. Los embriones flotan desde el dispositivo al WS de 1 M. Dejar los embriones en esta solución durante un minuto. Los embriones se encogen y flotan hacia la parte superior de la gota.

Nota: después de transferir los embriones, quitar el líquido que haya quedado en la pipeta de transferencia y colocar un poco de solución de la gota siguiente antes de volver a manipular. Evitar generar burbujas en las transferencias.

10. Colocar un poco de WS de 0.5 M en la pipeta de transferencia y transferir los embriones desde la gota de WS de 1 M con un volumen mínimo al fondo de la primera gota de WS de 0.5 M durante 2 minutos.
11. Luego transferir los embriones al fondo de la segunda gota de WS de 0.5 M durante 2 minutos.

Nota: los embriones permanecen encogidos durante la exposición a WS de 0.5 M. Mientras tanto, preparar tres gotas de 20 µl de solución MOPS (MS, MS1, MS2, MS3), como lo indica la Figura 1 (derecha).

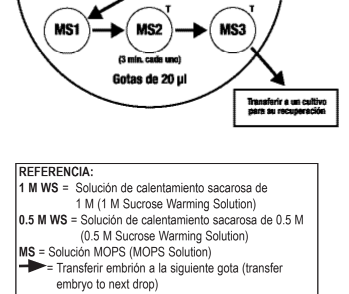
12. Transferir los embriones al fondo de la primera gota de MS (MS1) durante 3 minutos.
13. Transferir los embriones a la parte superior de la segunda gota de MS (MS2) durante 3 minutos.
14. Transferir los embriones a la parte superior de la tercera gota de MS (MS3) durante 3 minutos.
15. Finalmente, transferir los embriones a un plato con medio de cultivo pre-equilibrado de manera apropiada, e incubarlos en una incubadora de CO_2 a 37 °C durante 3 a 4 horas para permitir que se recuperen aún más antes de seguir manipulándolos o transfiriéndolos.
16. Si van a calentarse más embriones, repetir los pasos 6 a 16 anteriores con gotas nuevas de las soluciones de calentamiento.

B. Procedimiento con grandes volúmenes de solución en platos con 4 multipocillos

Nota: debe tenerse cuidado de evitar cualquier tipo de contaminación (por ej. microbiana, de paciente, etc.) cuando se utilizan los platos con 4 multipocillos.

1. Llenar el depósito con nitrógeno líquido hasta lograr una profundidad suficiente como para sumergir completamente un criotubo o una copa con el dispositivo de traslado y ubicarlo cerca del conge-lador de nitrógeno líquido que contiene los tubos para calentar.
2. Quitar las criocañas con las copas que contienen el dispositivo de traslado con los embriones vitrificados y transferirlos rápidamente al reservorio de nitrógeno líquido, manteniendo el dispositivo de traslado sumergido en nitrógeno líquido todo el tiempo.

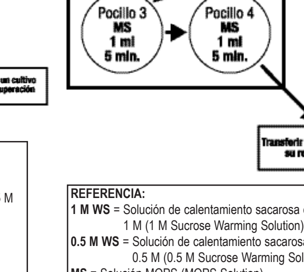
Fig. 1



REFERENCIA:
1 M WS = Solución de calentamiento sacarosa de 1 M (1 M Sucrose Warming Solution)
0.5 M WS = Solución de calentamiento sacarosa de 0.5 M (0.5 M Sucrose Warming Solution)
MS = Solución MOPS (MOPS Solution)
→ = Transferir embrión a la siguiente gota (transfer embryo to next drop)
T = Parte superior de la gota (Top of drop)
B = Parte inferior de la gota (Bottom of drop)

3. Seguir las instrucciones que trae el dispositivo de traslado que se ha utilizado.
4. Colocar el depósito cerca del microscopio para manipularlo rápidamente.
5. Etiquetar un plato con 4 multipocillos con la información necesaria.
6. Asegurarse de que el contenido de cada vía WS de 1 M, WS de 0.5 M y MS esté bien mezclado invirtiéndolo varias veces con cuidado antes de usarlo.
7. Preparar el plato multipocillo con 1 ml de WS de 1 M en el pocillo 1, 1 ml de WS de 0.5 M en el pocillo 2 y 1 ml de MS en los pocillos 3 y 4 (ver Fig. 2, adelante).
8. Colocar el dispositivo de traslado de la caña en el depósito de nitrógeno líquido usando unas pinzas. Se debe procesar un dispositivo de traslado a la vez.
9. Retirar con cuidado el tubo u otro dispositivo de traslado de la caña con la parte inferior que contiene los embriones siempre sumergida en el nitrógeno líquido.

Fig. 2



REFERENCIA:
1 M WS = Solución de calentamiento sacarosa de 1 M (1 M Sucrose Warming Solution)
0.5 M WS = Solución de calentamiento sacarosa de 0.5 M (0.5 M Sucrose Warming Solution)
MS = Solución MOPS (MOPS Solution)
→ = Transferir embrión al siguiente pocillo (transfer embryo to next well)

10. Seguir las instrucciones de uso que trae el dispositivo de traslado utilizado para sumergir inmediatamente (dentro de los 2 segundos) el dispositivo después de haberlo extraído de la cubierta protectora en el pocillo 1 con 1 ml de WS de 1 M. Los embriones flotan desde el dispositivo al WS de 1 M. Dejar los embriones en esta solución durante un minuto. Los embriones se encogen y flotan hacia la parte superior del pocillo.

Nota: después de transferir los embriones, quitar el líquido que haya quedado en la pipeta de transferencia y colocar un poco de solución de la gota siguiente antes de volver a manipular. Evitar generar burbujas en las transferencias.

11. Colocar un poco de WS de 0.5 M en la pipeta de transferencia y transferir los embriones desde el pocillo 1 al pocillo 2 con 1 ml de WS de 0.5 M durante 3 minutos.

Nota: los embriones permanecen encogidos durante la exposición a WS de 0.5 M.

12. A continuación, transferir los embriones a la parte superior del pocillo 3 con 1 ml de MS durante 5 minutos.
13. Luego, transferir los embriones a la parte superior del pocillo 4 con 1 ml de MS durante 5 minutos.
14. Finalmente, transferir los embriones a un plato con medio de cultivo pre-equilibrado de manera apropiada, e incubarlos en una incubadora de CO2 a 37 °C durante 3 a 4 horas para permitir que se recuperen aún más antes de seguir manipulándolos o transfiriéndolos.
15. Si van a calentarse más embriones, repetir los pasos 8 a 14 anteriores con gotas nuevas de WS de 1 M, WS de 0.5 M y MS.

Cada laboratorio determinará los detalles particulares de lo que se utilizará para cada intervención en particular.

Existe más información sobre aspectos específicos de la FIV, el cultivo de embriones y la criopreservación en nuestro catálogo de productos.

ALMACENAJE Y ESTABILIDAD

Mantener los envases sin abrir y refrigerados a una temperatura de entre 2 y 8 °C. Llevar a 35 o 37 °C antes de utilizarlos. No congelar ni exponer a temperaturas superiores a 39 °C. Los productos permanecen estables hasta la fecha de caducidad que figura en la etiqueta.

1. Retirar el volumen de producto necesario utilizando un procedimiento aséptico. Una vía contiene el volumen de solución suficiente para un solo uso.
2. Una vez retirado, no devolver producto al envase original. Desechar el producto remanente.
3. No utilizar el producto si se vuelve descolorido o turbio, o si presenta signos de contaminación microbiana.

REFERENCIAS

1. Liebermann J, Tucker MJ. 2006 Comparison of vitrification and conventional cryopreservation of day 5 and day 6 blastocysts during clinical application. Fertil Steril 86:20-26.
2. Takahashi K, Mukaida T, Goto T, Oka C. 2005 Perinatal outcome of blastocyst transfer with vitrification using cryoloop: a 4-year follow-up study. Fertil Steril 84; 88-92.
3. Raju GAR, Haranath GB, Krishna KM, et al. 2005 Vitrification of human 8-cell embryos, a modified protocol for better pregnancy rates. Reprod Biomed Online 11:434-437.
4. Hiraoka K, Hiraoka K, Kinutani M, et al. 2004 Blastocoele collapse by micropipetting prior to vitrification gives excellent survival and pregnancy outcomes for human day 5 and 6 expanded blastocysts. Human Reprod 19:2884-2888.
5. Stehlik E, Stehlik J, Katayama KP, et al. 2005 Vitrification demonstrates significant improvement versus slow freezing of human blastocysts. Reprod Biomed Online 11:53-57.
6. Vanderzwalmen P, Bertin G, Debauche Ch, et al. 2003 Vitrification of human blastocysts with the hemistraw carrier: application of assisted hatching after thawing. Human Reprod 18:1504-1511.
7. Kuwayama M, Vajta G, Leda S, et al. 2005 Comparison of open and closed methods for vitrification of human embryos and the elimination of potential contamination. Reprod Biomed Online 11:608-614.
8. Desai N, Blackmon H, Szeptycki J, et al. 2007 Cryoloop vitrification of human day 3 cleavage-stage embryos: post- vitrifcation development, pregnancy outcomes and live births. Reprod Biomed Online 14:208-213.
9. Selman HA, El-Danasouri I. 2002 Pregnancies derived from vitrified human zygotes. Fertil Steril 77:422-423.
10. Camus A, Clairaz P, Ersham A, et al. 2007 Comparison of the processes of five different Vitrification devices. Gynecol Obstet Fertil 34:737-745.

PRODUCTOS RELACIONADOS

SAGE Vitrification Kit (kit de vitrificación de SAGE™) ART 8025

SAGE™ In Vitro Fertilization™ dispone de una completa línea de productos para los especialistas en medicina reproductiva. No dude en llamar o escribir si necesita más información o si desea recibir un ejemplar de nuestro catálogo. Para preguntas técnicas, o para ponerse en contacto con nuestro Departamento de atención al cliente, llame a la línea de asistencia de SAGE™.

Número de la LÍNEA DE ASISTENCIA DE SAGE™:
En EE. UU.: (800) 243-2974
Internacional: (203) 601-9818

EXPLICACIÓN DE LOS SÍMBOLOS

HAS — Contiene: solución de albúmina humana (HAS).

GENT — Contiene: gentamicina.

CooperSurgical, Inc.
95 Corporate Drive
Trumbull, CT 06611 USA

EC REP
ORIGIO a/s
Knardrupvej 2
2760 Måløv
Denmark
www.fertility.coopersurgical.com
Tel: +45 46 79 02 00

Customer Service:
E-mail: sales@coopersurgical.com

Português

SAGE™ Warming Kit

(Kit de Vitrificação e Aquecimento)

Apenas para processos laboratoriais; outras utilizações devem ser qualificadas pelo utilizador final.

Descrição do produto	REFª Número
1,0 M Sucrose Warming Solution	ART-8030-A
0,5 M Sucrose Warming Solution	ART-8030-B
MOPS Solution	ART-8030-C

CE 2797

UTILIZAÇÃO PREVISTA

Estes produtos destinam-se à recuperação de embriões humanos (zigotos pronucleares até embriões na fase de clivagem ao dia 3 e embriões na fase de blastocisto) que foram vitrificados utilizando o Vitrification Kit (Ref # ART-8025) da SAGE™. Este kit foi concebido para ser utilizado em conjunto com o SAGE™ Vitrification Kit (ART-8025) da SAGE™ para a congelação ultra-rápida das amostras.

DESCRIÇÃO DO PRODUTO

A 1,0 M Sucrose Warming Solution (ART-8030-A) é uma solução tamponada com MOPS de HTF modificado contendo amino--ácidos não essenciais e essenciais, sulfato de gentamicina (10 mg/l), sacarose a 1,0 M e albumina sérica humana a 12 mg/ml. A 0,5 M Sucrose Warming Solution (ART-8030-B) é uma solução tamponada com MOPS de HTF modificado contendo aminoácidos não essenciais e essenciais, sulfato de gentamicina (10 mg/l), sacarose a 0,5 M e albumina sérica humana a 12 mg/ml.

A MOPS Solution (ART-8030-C) é uma solução tamponada com MOPS de HTF modificado contendo aminoácidos não essenciais e essenciais, sulfato de gentamicina (0,01 g/l) e albumina sérica humana a 12 mg/ml.

Este produto contém 10 mg/l de gentamicina, um antibiótico aminoglicosídico.

MATERIAIS FORNECIDOS NO KIT DE VITRIFICAÇÃO E AQUECIMENTO

1 frasco de 4 ml de 1,0 M Sucrose Warming Solution (REF ART-8030-A)

1 frasco de 2 ml de 0,5 M Sucrose Warming Solution (REF ART-8030-B)

1 x 6 ml de MOPS Solution (REF ART-8030-C)

PRECAUÇÕES E ADVERTÊNCIAS

Advertência: Desconhece-se a segurança a longo prazo da vitrificação de embrião(ões) resultante(s) deste procedimento.

Cuidado: A segurança e eficácia da vitrificação não foram ainda inteiramente avaliadas em embriões humanos que não tenham ainda atingido a fase de blastocisto do desenvolvimento. Até à data, registaram-se nados-vivos a partir de embriões na fase de clivagem vitrificados ao dia 3 do desenvolvimento (Desai et al., 2007) e estabeleceram-se gravidezes clínicas a partir de zigotos vitrificados (Selman & El-Danasouri, 2002).

Cuidado: O utilizador deve ler e compreender as Instruções de Utilização, Precauções e Advertências, e ter formação para o procedi-mento correcto antes de utilizar os Vitrification Kit e Vitrification Warming Kits para a vitrificação de embriões humanos.

A 1,0 M Sucrose Warming Solution (ART-8030-A) deste kit contém albumina sérica humana a 12 mg/ml.

A 0,5 M Sucrose Warming Solution (ART-8030-B) deste kit contém albumina sérica humana a 12 mg/ml.

O componente de MOPS Solution (ART-8030-C) deste kit contém albumina sérica humana a 12 mg/ml.

Este produto contém o antibiótico sulfato de gentamicina. Devem tomar-se as precauções apropriadas para garantir que a doente não é sensível a este antibiótico.

Cuidado: As leis federais dos EUA restringem a venda deste meio sem ser por um médico ou por ordem de um médico ou de um pro-fissional com formação para o respectivo uso.

Este produto contém albumina, um derivado do sangue humano.

Cuidado: Todos os produtos sanguíneos devem ser tratados como potencialmente infecciosos. O material de origem a partir do qual este produto foi derivado teve um resultado negativo no teste de anticorpos de HIV-1/HIV-2, HCV e não reactivo para HBsAg, RNA de HCV e RNA de HIV-1. Nenhum método de teste pode oferecer garantias de que os produtos derivados a partir do sangue humano não irão transmitir agentes infecciosos. Os dadores do material de origem foram testados para determinar a presença da doença de Creutzfeldt-Jakob (CJD). Com base nos testes efectivos dos dadores e nos processos de fabrico do produto, o risco de transmissão de doenças virais é extremamente remoto. O risco teórico de transmissão da CJD também é considerado extremamente remoto. Não foram identificados casos de transmissão de doenças virais ou da CJD através da albumina.

As medidas padrão para prevenir infecções resultantes do uso de produtos médicos preparados a partir de sangue ou plasma humano incluem a selecção dos dadores, rastreio das doações individuais e agrupamentos de plasma quanto a marcadores específicos de infecção, bem como a inclusão de etapas de fabrico eficazes na inactivação/remoção de vírus. Apesar disto, quando se administram produtos médicos preparados a partir de sangue ou plasma humano, não pode excluir-se completamente a possibilidade de transmissão de agentes infecciosos. Isto também se aplica a vírus desconhecidos ou emergentes e a outros agentes patogénicos. Não há registos de transmissões de vírus comprovadas com albumina fabricada em conformidade com as especificações da Farmacopeia Europeia, por processos estabelecidos.

Utilização única: Para evitar problemas de contaminação, manuseie recorrendo a técnicas asssépticas e deite fora qualquer excesso de produto que fique na garrafa ou frasco depois de completar o procedimento.

Os meios de reprodução são descartáveis. A reutilização de meios de reprodução pode resultar no uso de um produto com o prazo de validade expirado ou aumentar o risco de contaminação microbiana num procedimento subsequente se o especialista não recorrer às técnicas asssépticas adequadas.

A utilização de um produto com o prazo de validade expirado ou contaminação microbi-ana pode resultar em condições subóptimas para promover a fertilização e/ou a qualidade do embrião durante a cultura in vitro. Estas condições podem impedir que o embrião se desenvolva normalmente ou se implante, correndo-se o risco de um procedimento de reprodução assistida falhado.

Os produtos são processados em ambiente de assepsia e fornecidos esterilizados.

Nota: Embrião é considerado um termo genérico. Mais precisamente, a SAGE™ considera o período de tempo que tem início quando a fusão do genoma feminino e do genoma masculino se cria uma única célula diplóide resultando na formação do zigoto com o posterior desenvolvimento a partir de repetidas divisões mitóticas formando uma massa sólida ou mórula (normalmente no dia 4-5) e após a qual se desenvolve uma cavidade cheia de fluido resultando na formação de um embrião (normalmente no dia 5-6) que termina com a implantação do embrião que começa no final da primeira semana e está completa no final da segunda semana após a concepção.

GARANTIA DE QUALIDADE

As soluções deste kit são filtradas através de membrana e processadas assepticamente de acordo com procedimentos das actuais BPF, que foram validados para cumprir um nível de garantia de esterilidade (SAL) de 10^{-3}.

MEA de uma célula testado e aprovado, com taxa de embriões de 80% ou superior. Endotoxina USP testada e aprovada com <1 UE/ml.

Existe um Certificado de Análise para este produto.

MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO INCLUÍDOS

- Placas de Petri Estéreis (50 x 9 mm, Falcon 351006 ou equivalente) ou multiplacas de 4 poços (poços de 1 ml, Nunc 176740 ou equivalente)
- Luvas descartáveis
- Pipetas de transferência (pipetas de vidro soprado ou pontas de micropipeta com um diâmetro interno da ponta de ~200 µm)
- Pinças
- Tesoura ou bisturi
- Temporizador ou cronómetro
- Reservatório de Azoto Líquido (recipiente Dewar ou de Esferovite com tampa, volume de 1-2 l)
- Azoto líquido (volume suficiente para tapar o criotubo ou copo que contém o(s) blastocisto(s) vitrificado(s))
- Meio de cultura, por ex. Quinn's Advantage™ Protein Plus Blastocyst Medium (Ref # ART-1529) preparado e pré-equilibrado numa placa de cultura antes de descongelar as amostras

INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

Componentes do SAGE™ Warming Kit necessários para um procedimento de aquecimento de embrião(ões) (máximo de 2 embriões por procedimento).

1,0 M Sucrose Warming Solution (1M WS): 20 µl a 1 ml

0,5 M Sucrose Warming Solution (0,5M WS): 40 µl a 1 ml

MOPS Solution (MS): 60 µl a 2 ml

PROTOCOLO DE AQUECIMENTO E DILUIÇÃO:

O procedimento de aquecimento e diluição deve ser efectuado a 35 – 37 °C. Utilize uma platina de microscópio aquecida para os procedimentos seguintes. Minimize a exposição das amostras à luz durante a incubação nas Warming Solutions. Antes da utilização deixe as soluções atingirem os 35 – 37 °C.

Consulte as instruções de utilização incluídas, que acompanham o dispositivo de transporte que foi utilizado, para ver as instruções específicas relativas a esse dispositivo.

A: Procedimento utilizando volumes de microgota de soluções

1. Encha o reservatório de azoto líquido com azoto líquido até uma profundidade suficiente para mergulhar completamente um criotubo ou copo contendo o disposi-tivo de transporte utilizado e coloque-o junto do congelador de azoto líquido que contém as amostras vitrificadas a ser aquecidas.

   Retire as criovaretas com os copos contendo o dispositivo de transporte com embrião(ões) vitrificado(s) e transfira-os rapidamente para o reservatório que contém azoto líquido, mantendo sempre o dispositivo de transporte em azoto líquido.
2. Siga as instruções que acompanham o dispositivo de transporte que foi utilizado.
3. Coloque o reservatório junto ao micros-cópio para uma manipulação rápida.
4. Rotule uma placa (ou tampa) de Petri estéril com as informações necessárias.
5. Certifique-se de que o conteúdo de cada frasco de 1 M WS, 0,5 M WS e MS fica bem misturado por inversão suave várias vezes antes da utilização.
6. Prepare a placa de Petri dispensando assepticamente uma gota de 20 µl de 1 M WS e duas gotas de 20 µl de 0,5 M WS (consulte a Fig. 1, do lado direito). Posteriormente, no Passo 12, serão preparadas três gotas de 20 µl de MS.
7. Utilizando uma pinça, encontre o disposi-tivo de transporte na vareta, no reservatório de azoto líquido. Apenas deve processar-se um dispositivo de transporte de cada vez.
8. Retire cuidadosamente o dispositivo de transporte da vareta, mantendo a parte que contém o(s) embrião(ões) sob a superfície do azoto líquido.
9. Siga as instruções de utilização que acompanham o dispositivo de transporte utilizado para mergulhar imediatamente (dentro de 2 segundos) o dispositivo depois de ter sido extraído da sua cober-tura de protecção na gota de 1 M WS. O(s) embrião(ões) irá(ão) flutuar do dispositivo para a 1 M WS. Deixe o(s) embrião(ões) nesta solução durante um minuto. O(s) embrião(ões) irá(ão) encolher e flutuar para o topo da gota.

Nota: Após cada transferência de embrião(ões), sopre para eliminar qualquer líquido restante da pipeta de transferência e recolha alguma solução da gota seguinte antes da próxima manipulação. Evite criar bolhas durante as transferências.

10. Recolha alguma 0,5 M WS para a pipeta de transferência a transfira o(s) embrião(ões) da gota de 1 M WS, com um mínimo de volume, para a base da primeira gota de 0,5 M WS durante 2 minutos.
11. Em seguida, transfira o(s) embrião(ões) para a base da segunda gota de 0,5 M WS durante 2 minutos.

Nota: O embrião(ões) irá(ão) permanecer encolhido(s) durante a exposição a 0,5 M WS. Durante este tempo, prepare três gotas de 20 µl de MOPS Solution (MS; MS1, MS2, MS3), conforme ilustrado na Figura 1 (lado direito).

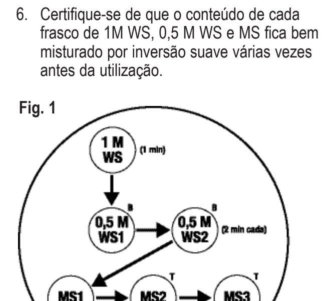
12. Transfira o(s) embrião(ões) para a base da primeira gota de MS (MS1) durante 3 minutos.
13. Em seguida, transfira o(s) embrião(ões) para o topo da segunda gota de MS (MS2) durante 3 minutos.
14. Transfira o(s) embrião(ões) para o topo da terceira gota de MS (MS3) durante 3 minutos.
15. Por último, transfira o(s) embrião(ões) para uma placa de meio de cultura apropriado e pré-equilibrado e incube numa incubadora de CO_2 a 37 °C durante 3-4 horas para permitir uma posterior antes de outras manipulações e/ou transferências.
16. Caso haja mais embriões a ser aquecidos, repita os passos 6 a 16 acima, utilizando gotas frescas das soluções de aquecimento.

B. Procedimento utilizando volumes maiores de solução, numa multiplaca de 4 poços

Nota: Deve ter-se o cuidado de evitar qualquer contaminação (por ex. microbiana, de doentes, etc.) ao utilizar placas de 4 poços.

1. Encha o reservatório de azoto líquido com azoto líquido até uma profundidade suficiente para mergulhar completamente um criotubo ou copo contendo o dispositivo de transporte utilizado e coloque-o junto do congelador de azoto líquido que contém os tubinhos a ser aquecidos.
2. Retire as criovaretas com os copos contendo o dispositivo de transporte com embrião(ões) vitrificado(s) e transfira-os rapidamente para o reservatório que contém azoto líquido, mantendo sempre o dispositivo de transporte em azoto líquido.
3. Siga as instruções que acompanham o dispositivo de transporte que foi utilizado.
4. Coloque o reservatório junto ao micro-scópio para uma manipulação rápida.
5. Rotule uma multiplaca de 4 poços estéril com as informações necessárias.
6. Certifique-se de que o conteúdo de cada frasco de 1M WS, 0,5 M WS e MS fica bem misturado por inversão suave várias vezes antes da utilização.

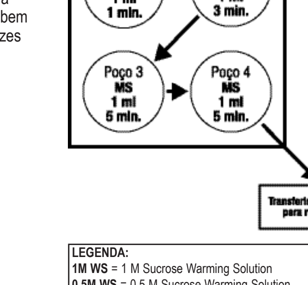
Fig. 1



LEGENDA:
1M WS = 1 M Sucrose Warming Solution
0,5M WS = 0,5 M Sucrose Warming Solution
MS = MOPS Solution
→ = transferir o embrião para a gota seguinte (transfer embryo to next drop)
T = Topo da gota (Top of drop)
B = Base da gota (Bottom of drop)

7. Prepare a placa multipoços assepticamente, dispensando 1 ml de 1 M WS no Poço 1, 1 ml de 0,5 M WS no Poço 2 e 1 ml de MS em cada um dos Poços 3 e 4 (consulte a Fig. 2).
8. Utilizando uma pinça, encontre o dispositivo de transporte na vareta, no reservatório de azoto líquido. Apenas deve processar-se um dispositivo de transporte de cada vez.
9. Retire cuidadosamente o tubinho ou outro dispositivo de transporte da vareta, mantendo a parte inferior, que contém o(s) embrião(ões), sob a superfície do azoto líquido.

Fig. 2



LEGENDA:
1M WS = 1 M Sucrose Warming Solution
0,5M WS = 0,5 M Sucrose Warming Solution
MS = MOPS Solution
→ = transferir o embrião para o poço seguinte (transfer embryo to next well)

10. Siga as Instruções de Utilização que acompanham o dispositivo de transporte utilizado para mergulhar imediatamente (dentro de 2 segundos) o dispositivo depois de ter sido extraído da sua cober-tura de protecção no Poço 1, que contém 1 ml de 1 M WS. O(s) embrião(ões) irá(ão) flutuar do dispositivo para a 1M WS. Deixe o(s) embrião(ões) nesta solução durante um minuto. O(s) embrião(ões) irá(ão) encolher e flutuar para o topo do poço.

Nota: Após cada transferência de embriões, sopre para eliminar qualquer líquido restante da pipeta de transferência e recolha alguma solução da gota seguinte antes da próxima manipulação. Evite criar bolhas durante as transferências.

11. Recolha alguma 0,5 M WS para a pipeta de transferência e transfira o(s) embrião(ões) do Poço 1 para o Poço 2, que contém 1 ml de 0.5 M WS, durante 3 minutos.

Nota: O embrião(ões) irá(ão) permanecer encolhido(s) durante a exposição a 0,5M WS.

12. Em seguida transfira o(s) embrião(ões) para o topo do Poço 3, que contém 1 ml de MS, durante 5 minutos.
13. Em seguida, transfira o(s) embrião(ões) para o topo do Poço 4, que contém 1 ml de MS, durante 5 minutos.
14. Por último, transfira o(s) embrião(ões) para uma placa de meio de cultura apropriado e pré-equilibrado e incube numa incubadora de CO_2 a 37 °C durante 3-4 horas para permitir uma posterior antes de outras manipulações e/ou transferências.
15. Caso haja mais embriões a ser aquecidos, repita os passos 8 a 14 imediatamente acima, utilizando novas soluções de 1 M WS, 0,5 M WS e MS.

Cada laboratório deve decidir por si quais os detalhes particulares a utilizar para cada procedimento específico.

A informação sobre aspectos específicos de FIV, cultura de embriões e criopreservação está disponível no nosso Catálogo de Produtos.

INSTRUÇÕES PARA ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE

Conserve os recipientes não abertos refrige--rados a 2 °C to 8 °C. Aqueça à temperatura de 35 - 37 °C antes de utilizar. Não congele nem exponha a temperaturas superiores a 39 °C. Os produtos são estáveis até ao prazo de validade indicado na etiqueta.

1. Remova o volume de produto necessário com métodos asssépticos. Um frasco contém um volume de solução adequado para uma única utilização.
2. Depois de remover, não reponha qualquer volume do produto no recipiente original. Elimine o produto restante.
3. Não utilize o produto se ficar despigmen-tado, baço, turvo ou se apresentar qualquer sinal de contaminação microbiana.

REFERÊNCIAS

1. Liebermann J, Tucker MJ. 2006 Comparison of vitrification and conventional cryopreservation of day 5 and day 6 blastocysts during clinical application. Fertil Steril 86:20-26.
2. Takahashi K, Mukaida T, Goto T, Oka C. 2005 Perinatal outcome of blastocyst transfer with vitrification using cryoloop: a 4-year follow-up study. Fertil Steril 84; 88-92.
3. Raju GAR, Haranath GB, Krishna KM, et al. 2005 Vitrification of human 8-cell embryos, a modified protocol for better pregnancy rates. Reprod Biomed Online 11:434-437.
4. Hiraoka K, Hiraoka K, Kinutani M, et al. 2004 Blastocoele collapse by micropipetting prior to vitrification gives excellent survival and pregnancy outcomes for human day 5 and 6 expanded blastocysts. Human Reprod 19:2884-2888.
5. Stehlik E, Stehlik J, Katayama KP, et al. 2005 Vitrification demonstrates significant improvement versus slow freezing of human blastocysts. Reprod Biomed Online 11:53-57.
6. Vanderzwalmen P, Bertin G, Debauche Ch, et al. 2003 Vitrification of human blastocysts with the hemistraw carrier: application of assisted hatching after thawing. Human Reprod 18:1504-1511.
7. Kuwayama M, Vajta G, Leda S, et al. 2005 Comparison of open and closed methods for vitrification of human embryos and the elimination of potential contamination. Reprod Biomed Online 11:608-614.
8. Desai N, Blackmon H, Szeptycki J, et al. 2007 Cryoloop vitrification of human day 3 cleavage-stage embryos: post- vitrifcation development, pregnancy outcomes and live births. Reprod Biomed Online 14:208-213.
9. Selman HA, El-Danasouri I. 2002 Pregnancies derived from vitrified human zygotes. Fertil Steril 77:422-423.
10. Camus A, Clairaz P, Ersham A, et al. 2007 Comparison of the processes of five different Vitrification devices. Gynecol Obstet Fertil 34:737-745.

PRODUTOS RELACIONADOS

ART 8025 SAGE™ Vitrification Kit

A SAGE In Vitro Fertilization™ oferece uma linha completa de produtos para Especialistas em Medicina Reprodutiva. Telefone ou escreva para informações mais específicas ou para receber uma cópia do nosso catálogo actualizado. Para questões técnicas ou para contactar o nosso Departamento de Assistência, utilize a linha de assistência SAGE™.

Contacte a LINHA DE ASSISTÊNCIA SAGE™ através do número:
Nos EUA: (800) 243-2974
Internacional: (203) 601-9818

EXPLICAÇÃO DE SÍMBOLOS

HAS — Contém: solução de albumina humana.

GENT — Contém: gentamicina.

CooperSurgical, Inc.
95 Corporate Drive
Trumbull, CT 06611 USA

EC REP
ORIGIO a/s
Knardrupvej 2
2760 Måløv
Denmark
www.fertility.coopersurgical.com
Tel: +45 46 79 02 00

Customer Service:
E-mail: sales@coopersurgical.com

Česky

SAGE™
Warming Kit
(Sada pro zahřívání po vitrifikaci)

Pouze pro laboratorní účely. Jiné použití musí být schváleno koncovým uživatelem.

Popis produktu	REF číslo
1,0 M Sucrose Warming Solution	ART-8030-A
0,5 M Sucrose Warming Solution	ART-8030-B
MOPS Solution	ART-8030-C

CE 2797

POUŽITÍ:
Tyto produkty jsou určeny pro obnovení lidských embryí (zygoty v pronukleárním stádiu až embrya ve stádiu rýhování v den 3 a embrya ve stádiu blastocysty), které byly vitrifikované pomocí SAGE ™ Vitrification Kit (Ref # ART-8025). Sada musí být použita ve spojení se sadou SAGE™ Vitrification Kit (ART-8025) pro velmi rychlé opětovné zmrazení vzorků.

POPIS PRODUKTU
1,0 M Sucrose Warming Solution (ART-8030-A) je roztok modifikované HTF pufrovaný MOPS, který obsahuje neesenciální a esenciální aminokyseliny, gentamicin sulfát (10 mg/l), 1,0 M sacharózy a 12 mg/ml lidského sérového albuminu.

0,5 M Sucrose Warming Solution (ART-8030-B) je roztok modifikované HTF pufrovaný MOPS, který obsahuje neesenciální a esenciální aminokyseliny, gentamicin sulfát (10 mg/l), 0,5 M sacharózy a 12 mg/ml lidského sérového albuminu.

MOPS Solution (ART-8030-C) je roztok modifikované HTF pufrovaný MOPS, který obsahuje neesenciální a esenciální aminokyseliny, gentamicin sulfát (0,01 mg/l) a 12 mg/ml lidského sérového albuminu.

Tento produkt obsahuje 10 mg/l gentamicinu, což je aminoglykosidické antibiotikum.

MATERIÁLY DODANÉ V RÁMCI SADY PRO ZAHŘÍVÁNÍ PO VITRIFIKACI
1,0 M Sucrose Warming Solution, 1 x ampulka, 4 ml (REF ART-8030-A)

0,5 M Sucrose Warming Solution, 1 x ampulka, 2 ml (REF ART-8030-B)

MOPS Solution, 1 x 6 ml (REF ART-8030-C)

BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ A VAROVÁNÍ
Varování: Dlouhodobá bezpečnost vitrifikace embrya (embryí) u dětí narozených tímto postupem není známá.

Pozor: Bezpečnost a účinnost vitrifikace u lidských embryí, které dosud nedosáhly vývojové fáze blastocysty, nebyly plně vyhodnoceny. K dnešnímu dni byly byly hlášeny případy živě narozených dětí z embryí ve stádiu rýhování, které byly vitrifikovány ve vývojový den 2 (Desai et al., 2007) a došlo ke klinickým těhotenstvím z vitrifikovaných zygotů (Selman & El-Danasouri, 2002).

Pozor: Pozor:Uživatelé si před použitím sad Vitrification Kit a Vitrification Warming Kit pro vitrifikaci lidských embryí musí přečíst a porozumět návodu k použití, bezpečnostním opatřením a varováním, a musí být proškoleni o správných postupech.

Složka 1,0 M Sucrose Warming Solution (ART-8030-A) v této sadě obsahuje 12 mg/ml lidského sérového albuminu.

Složka 0,5 M Sucrose Warming Solution (ART-8030-B) v této sadě obsahuje 12 mg/ml lidského sérového albuminu.

Složka MOPS Solution Solution (ART-8030-C) v této sadě obsahuje 12 mg/ml lidského sérového albuminu.

Tento produkt obsahuje antibiotikum gentamicin sulfát. Proveďte příslušná opatření pro zajištění toho, aby pacient nebyl na toto antibiotikum citlivý.

Pozor: Federální zákony Spojených států amerických omezují prodej tohoto prostředku pouze na lékaře proškoleného v jeho používání (nebo licencovaného zdravotníka), nebo na jeho předpis.

Tento produkt obsahuje albumin, derivát z lidské krve.

Pozor: Se všemi krevními produkty je nutné manipulovat jako s potenciálně infekčními. Výchozí materiál, ze kterého byl tento produkt odvozen, byl při testování na protilátky na HIV-1/HIV-2, HCV shledán negativním a nereaktivním na HbsAg, HCV RNA a HIV-1 RNA. Žádné známé testovací metody však nemohou poskytnout záruku, že produkty získané z lidské krve nepřenášejí infekční látky. Dárci zdrojového materiálu také prošli screeningem ohledně rizika vystavení Creutzfeldt-Jakobově nemoci (CJD). Na základě účinného screeningu dárce a výrobních procesů je riziko přenosu virových onemocnění velmi malé. Teoretické riziko přenosu CJD je také považováno za velmi malé. U albuminu nebyly nikdy zjištěny žádné případy přenosu virových onemocnění nebo CJD.

Standardní opatření zabraňující přenosu infekce v souvislosti s používáním léčivých přípravků vyrobených z lidské krve nebo plazmy zahrnují pečlivý výběr dárců, testování jednotlivých odběrů krve a plazmatických poolů na specifické ukazatele infekce a účinné výrobní kroky, při nichž jsou inaktivovány nebo odstraněny viry. Přes všechna tato opatření nelze při podávání léků vyráběných z lidské krve nebo plazmy možnost přenosu infekčních látek zcela vyloučit. To platí i pro jakékoli neznámé nebo vznikající viry a jiné patogeny. Nejsou hlášeny žádné známé případy prokázaných virových přenosů albuminem vyrobeným stanovenými postupy podle specifikací Evropského lékopisu.

Jednorázové použití: Aby se předešlo problémům kontaminace používejte aseptické metody a zlikvidujte veškerý nadbytečný produkt, který po proceduře zůstane v láhvi nebo ampulce.

Reprodukční média jsou určena pouze k jednorázovému použití. Opakovaným použitím reprodukčního média může dojít k použití produktu po jeho označeném datu expirace nebo zvýšení rizika mikrobiální kontaminace v následném postupu v případě, že zdravotník nepoužije odpovídající aseptické techniky.

Použití produktu po datu expirace nebo mikrobiálně znečištěného produktu může mít za následek nedostatečně optimální podmínky pro podporu oplodnění a/nebo kvalitu embrya v průběhu in-vitro kultivace. Tyto podmínky mohou vést ke špatnému rozvoji nebo uchycení embrya, což může vést k selhání asistované reprodukce.

Produkty se vyrábí asepticky a dodávají se sterilní.

Poznámka: Embryo je považováno za obecný výraz. Přesněji řečeno, SAGE ™ bere v úvahu úvodní dobu, kdy z fúze mužského a ženského genomu vzniká jediná diploidní buňka vedoucí k tvorbě zygoty a následnému rozvoji z opakovaných mitotických dělení, které tvoří konzistentní strukturu nebo morulu (obvykle den 4–5), a po kterém se vytváří dutiny naplněné tekutinou, což vede k tvorbě blastocysty (obvykle 5–6 dnů) končící implantací embrya, která začíná na konci prvního týdne a je dokončena na konci druhého týdne po početí.

ZAJIŠTĚNÍ KVALITY
Roztoky v této soupravě jsou filtrovány přes membránu a jsou asepticky zpracovány podle postupů cGMP, u kterých bylo ověřeno, že splňují úroveň zajištění sterility (SAL) 10^{-3}.

Testováno jednobuněčným embryem laboratorní myši, prošlo s výsledkem embrya 80 % nebo vyšším. Testován USP endotoxin s výsledkem <1 EU/ml.

Pro tento produkt je k dispozici certifikát analýzy.

POŽADOVANÝ MATERIÁL, KTERÝ NENÍ SOUČÁSTÍ DODÁVKY
- Sterilní Petriho misky (50 x 9 mm, Falcon 351006 nebo ekvivalent) nebo 4jamkové destičky (1ml jamky, Nunc 176740 nebo ekvivalent)
- Jednorázové rukavice
- Přenosové pipety (hroty pipet z taženého skla nebo mikropipety s hrotem o vnitřním průměru ~ 200 µm)
- Pinzety
- Nůžky nebo skalpel
- Časovač nebo stopky
- Nádoba na kapalný dusík (Dewarova nádoba nebo polystyrenová nádoba s víkem, objem 1–2 l)
- Kapalný dusík (dostatečné množství pro zakrytí kryogenní zkumavky nebo poháru obsahujícího vitrifikované blastocysty
- Kultivační médium, např. Quinn's Advantage ™ Protein Plus Blastocyst Medium (Ref # ART-1529) připravené a předem uvedené do rovnovážného stavu v kultivační misce před rozmrazením vzorku.

NÁVOD K POUŽITÍ
Složky sady SAGE™ Warming Kit nutné pro jeden proces zahřátí embrya (embryí) (maximálně 2 embrya na proces) jsou:
1,0 M Sucrose Warming Solution (1M WS): 20 µl až 1 ml
0,5 M Sucrose Warming Solution (0.5M WS): 40 µl až 1 ml
MOPS Solution (MS): 60 µl až 2 ml

PROTOKOL ZAHŘÍVÁNÍ A ŘEDĚNÍ:
Proces zahřívání a ředění musí probíhat při 35–37 °C. Pro následující postupy použijte vyhřívaný stolek mikroskopu. V průběhu inkubace v zahřívacím roztoku minimalizujte vystavení vzorků světlu. Před použitím roztoky vytemperujte na teplotu 35–37 °C.

Konkrétní pokyny pro použití nosiče naleznete v přiloženém návodu k použití.

A. Metoda s použitím mikrokapek roztoků
1. Nádrž na kapalný dusík naplňte kapalným dusíkem do dostatečné hloubky, aby bylo možno zcela ponořit kryogenní zkumavku nebo pohárek obsahující použitý nosič a umístěte ji do blízkosti mrazáku s kapalným dusíkem obsahujícím vitrifikované vzorky, které chcete zahřát.
   Vyjměte držáky s kryogenními pohárky obsahujícími nosič s vitrifikovaným embryem (embryi) a rychle je přeneste do nádrže obsahující kapalný dusík, nosič musí být po celou dobu zakryt kapalným dusíkem.
2. Řiďte se pokyny pro použití nosiče, které naleznete v přiloženém návodu k použití.
3. Nádrž umístěte do blízkosti mikroskopu, aby byla možná rychlá manipulace.
4. Na sterilní Petriho misku (nebo víčko) nalepte štítek s nezbytnými údaji.
5. Před použitím několikrát opatrně obraťte ampulky s 1M WS, 0,5 M WS a MS, abyste zajistili dobré promíchání obsahu.
6. Připravte obrácené víčko Petriho misky aseptickým kápnutím jedné 20 µl kapky roztoku 1M WS a dvou 20 µl kapek roztoku 0,5M WS (viz obr. 1 vpravo). Tři 20 µl kapky roztoku MS budou připraveny později v kroku 12.
7. Pomocí pinzety lokalizujte v nádrži s kapalným dusíkem nosič umístěný na držáku. Zpracováván může být vždy pouze jeden nosič.
8. Opatrně vyjměte nosič z držáku, část obsahující embryo (embrya) neustále udržujte ponořenou v kapalném dusíku.
9. Postupujte podle pokynů k použití přiložených k nosiči týkajících se okamžitého (do 2 sekund) ponoření nosiče do kapky roztoku 1M WS poté, co byl vytažen ze svého ochranného obalu. Embryo (embrya) vyplave z nosiče do roztoku 1M WS. Embryo (embrya) v roztoku nechte po dobu jedné minuty. Embryo (embrya) se zmenší a vyplave do vrchní části kapky.

Poznámka: Po každém přenosu embrya (embryí) vyfoukněte veškerou tekutinu zbývající v přenosové pipetě a před další manipulací natáhněte část roztoku z další kapky. Při přenosu se vyhněte tvorbě bublin.

10. Do přenosové pipety natáhněte část roztoku 0,5M WS a na dobu 2 minut přeneste embryo (embrya) z kapky roztoku 1M WS s minimálním objemem do spodní části první kapky roztoku 0,5M WS.
11. Následně na dobu 2 minut přeneste embryo (embrya) do spodní části druhé kapky roztoku 0,5M WS.

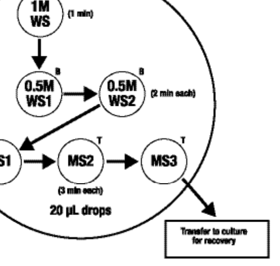
Poznámka: V průběhu vystavení roztoku 0,5M WS zůstane embryo (embrya) zmenšené. V tuto chvíli připravte tři 20µl kapky roztoku MOPS Solution (MS; MS1, MS2, MS3), jak je uvedeno na obrázku 1 (vpravo).

12. Na dobu 3 minut přeneste embryo (embrya) do spodní části první kapky roztoku MS (MS1).
13. Následně na dobu 3 minut přeneste embryo (embrya) do horní části druhé kapky roztoku MS (MS2).
14. Na dobu 3 minut přeneste embryo (embrya) do horní části třetí kapky roztoku MS (MS3).
15. Nakonec přeneste embryo (embrya) do misky s médiem, které bylo předem uvedené do rovnovážného stavu a inkubujte v CO_2 inkubátoru při teplotě 37 °C po dobu 3–4 hodin, aby před další manipulací a/nebo přenosem došlo k dalšímu obnovení.
16. Pokud bude zahříváno více embryí, zopakujte použijte za použití nových kapek roztoků ES a VS výše uvedené kroky 6 až 16.

B. Postup používající větší objemy roztoku v 4jamkových destičkách
Poznámka: Při použití 4jamkových misek musíte dbát zvýšené opatrnosti, abyste zabránili jakékoli kontaminaci (např. mikrobiální, pacientem atd.).

1. Nádrž na kapalný dusík naplňte kapalným dusíkem do dostatečné hloubky, aby bylo možno zcela ponořit kryogenní zkumavku nebo pohárek obsahující použitý nosič a umístěte ji do blízkosti mrazáku s kapalným dusíkem obsahujícím vitrifikované vzorky, které chcete zahřát.
2. Vyjměte držáky s kryogenními pohárky obsahujícími nosič s vitrifikovaným embryem (embryi) a rychle je přeneste do nádrže obsahující kapalný dusík, nosič musí být po celou dobu zakryt kapalným dusíkem.
3. Řiďte se pokyny pro použití nosiče, které naleznete v přiloženém návodu k použití.
4. Nádrž umístěte do blízkosti mikroskopu, aby byla možná rychlá manipulace.
5. Na sterilní 4jamkovou destičku nalepte štítek s nezbytnými údaji.
6. Před použitím několikrát opatrně obraťte ampulky s 1M WS, 0,5 M WS a MS, abyste zajistili dobré promíchání obsahu.

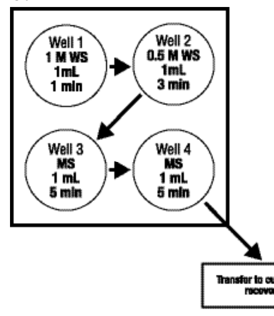
Obr. 1



LEGENDA:
1M WS = 1 M Sucrose Warming Solution
0.5M WS = 0,5 M Sucrose Warming Solution
MS = MOPS Solution
→ = přenos embrya do další kapky
T = horní část kapky
B = spodní část kapky

7. Připravte vícejamkovou destičku aseptickým kápnutím 1 ml roztoku 1M WS do jamky 1, 1 ml roztoku 0,5M WS do jamky 2 a 1 ml roztoku MS do jamky 3 a 4 (viz obr. 2).
8. Pomocí pinzety lokalizujte v nádrži s kapalným dusíkem nosič umístěný na držáku. Zpracováván může být vždy pouze jeden nosič.
9. Opatrně vyjměte pejetu nebo jiný nosič z držáku, spodní část obsahující embryo (embrya) neustále udržujte ponořenou v kapalném dusíku.
10. Postupujte podle pokynů k použití přiložených k nosiči týkajících se okamžitého (do 2 sekund) ponoření nosiče do jamky 1 obsahující roztok 1M WS poté, co byl vytažen ze svého ochranného obalu. Embryo (embrya) vyplave z nosiče do roztoku 1M WS. Embryo (embrya) v roztoku nechte po dobu jedné minuty. Embryo (embrya) se zmenší a vyplave do vrchní části jamky.

Obr. 2



LEGENDA:
1M WS = 1 M Sucrose Warming Solution
0.5M WS = 0,5 M Sucrose Warming Solution
MS = MOPS Solution
→ = přenos embrya do další jamky

Poznámka: Po každém přenosu embrya (embryí) vyfoukněte veškerou tekutinu zbývající v přenosové pipetě a před další manipulací natáhněte část roztoku z další kapky. Při přenosu se vyhněte tvorbě bublin.

11. Do přenosové pipety natáhněte část roztoku 0,5M WS a na dobu 3 minut přeneste embryo (embrya) z jamky 1 do jamky 2 obsahující 1 ml roztoku 0,5M WS.

Poznámka: V průběhu vystavení roztoku 0,5M WS zůstane embryo (embrya) zmenšené.

12. Následně na dobu 5 minut přeneste embryo (embrya) do horní části jamky 3 obsahující 1 ml roztoku MS.
13. Potom na dobu 5 minut přeneste embryo (embrya) do horní části jamky 4 obsahující 1 ml roztoku MS.
14. Nakonec přeneste embryo (embrya) do misky s médiem, které bylo předem uvedené do rovnovážného stavu a inkubujte v CO_2 inkubátoru při teplotě 37 °C po dobu 3–4 hodin, aby před další manipulací a/nebo přenosem došlo k dalšímu obnovení.
15. Pokud bude zahříváno více embryí, okamžitě zopakujte výše uvedené kroky 8 až 14, použijte nové roztoky 1M WS, 0,5M WS a MS.

Každá laboratoř si musí stanovit vlastní podrobnosti , které chce použít pro každý jednotlivý postup.

Informace o konkrétních aspektech in vitro fertilizace (IVF), kultury embrya a kryokonzervaci jsou k dispozici v našem produktovém katalogu.

POKYNY PRO SKLADOVÁNÍ A STÁLOST
Neotevřené nádoby uchovávejte v lednici při teplotě 2 °C až 8 °C. Před použitím vytemperujte na teplotu 35–37 °C. Nezmrazujte a nevystavujte teplotám vyšším než 39 °C. Produkty jsou stabilní až do expirační doby vyznačené na štítku.

1. Aseptickými postupy vyjměte požadované množství produktu. Jedna ampulka obsahuje dostatečné množství roztoku pouze pro jedno použití.
2. Po vyjmutí již do původní nádoby žádný produkt nevracejte. Zbývající produkt zlikvidujte.
3. Produkt nepoužívejte v případě ztráty zabarvení, zakalení, nebo pokud vykazuje jakékoli známky mikrobiální kontaminace.

REFERENCE
1. Liebermann J, Tucker MJ. 2006 Comparison of vitrification and conventional cryopreservation of day 5 and day 6 blastocysts during clinical application. Fertil Steril 86:20-26.
2. Takahashi K, Mukaida T, Goto T, Oka C. 2005 Perinatal outcome of blastocyst transfer with vitrification using cryoloop: a 4-year follow-up study. Fertil Steril 84;88-92.
3. Raju GAR, Haranath GB, Krishna KM, et al. 2005 Vitrification of human 8-cell embryos, a modified protocol for better pregnancy rates. Reprod Biomed Online 11:434-437.
4. Hiraoka K, Hiraoka K, Kinutani M, et al. 2004 Blastocoele collapse by micropipetting prior to vitrification gives excellent survival and pregnancy outcomes for human day 5 and 6 expanded blastocysts. Human Reprod 19:2884-2888.
5. Stehlik E, Stehlik J, Katayama KP, et al. 2005 Vitrification demonstrates significant improvement versus slow freezing of human blastocysts. Reprod Biomed Online 11:53-57.
6. Vanderzwalmen P, Bertin G, Debauche Ch, et al. 2003 Vitrification of human blastocysts with the hemistraw carrier: application of assisted hatching after thawing. Human Reprod 18:1504-1511.
7. Kuwayama M, Vajta G, Leda S, et al. 2005 Comparison of open and closed methods for vitrification of human embryos and the elimination of potential contamination. Reprod Biomed Online 11:608-614.
8. Desai N, Blackmon H, Szeptycki J, et al. 2007 Cryoloop vitrification of human day 3 cleavage-stage embryos: post-vitrifcation development, pregnancy outcomes and live births. Reprod Biomed Online 14:208-213.
9. Selman HA, El-Danasouri I. 2002 Pregnancies derived from vitrified human zygotes. Fertil Steril 77:422-423.
10. Camus A, Clairaz P, Ersham A, et al. 2007 Comparison of the processes of five different Vitrification devices. Gynecol Obstet Fertil 34:737-745.

PŘÍBUZNÉ PRODUKTY
ART 8025 SAGE™ Vitrification Kit

SAGE In Vitro Fertilization™ nabízí odborníkům v oblasti reprodukční medicíny ucelenou řadu produktů. Pokud chcete získat konkrétní informace nebo obdržet náš aktuální katalogu, zavolejte nám nebo napište. Pokud máte technické dotazy nebo chcete kontaktovat naše oddělení styku se zákazníky, volejte linku podpory SAGE™.

Volejte linku podpory SAGE™: V USA: (800) 243-2974 Mezinárodní: (203) 601-9818

SYMBOLY
HAS Obsah: Roztok lidského albuminu.
GENT Obsahuje: Gentamicin.

CooperSurgical, Inc.
95 Corporate Drive
Trumbull, CT 06611 USA

EC REP
ORIGIO a/s
Knardrupvej 2
2760 Måløv
Denmark
www.fertility.coopersurgical.com
Tel: +45 46 79 02 00

Zákaznické služby:
E-mail: sales@coopersurgical.com

Українська

SAGE™
Warming Kit

Тільки для лабораторних процедур; інші види використання повинні бути кваліфіковані кінцевим користувачем.

Продукт Опис	Вих. номер
1,0 M Sucrose Warming Solution	ART-8030-A
0,5 M Sucrose Warming Solution	ART-8030-B
MOPS Solution	ART-8030-C

CE 2797

ВИКОРИСТАННЯ ЗА ПРИЗНАЧЕННЯМ
Ці продукти призначені для відновлення людських ембріонів (пронуклеус зигот ембріонів на стадії дроблення на 3-й день і ембріонів на стадії бластоцисти), які були вітрифіковані з використанням набору SAGE™ Vitrification Kit (вих. № ART-8025). Цей набір призначений для використання в комбінації з SAGE™ Vitrification Kit (вих. № ART-8025) з метою надшвидкого заморожування зразків.

ОПИС ПРОДУКТУ
1,0 M Sucrose Warming Solution (ART-8030-A), являє собою буферний розчин MOPS модифікованої трубної рідини людини (HTF), що містить незамінні й замінні амінокислоти, сульфат гентаміцину (10 мг/л), 1,0 M сахарози і 12 мг/л сироваткового альбуміну людини.

0,5 M Sucrose Warming Solution (ART-8030-B) являє собою буферний розчин MOPS модифікованої трубної рідини людини (HTF), що містить незамінні й замінні амінокислоти, сульфат гентаміцину (10 мг/л), 0,5 M сахарози і 12 мг/л сироваткового альбуміну людини.

MOPS Solution (ART-8030-C) являє собою буферний розчин MOPS модифікованої трубної рідини людини (HTF), що містить незамінні й замінні амінокислоти, сульфат гентаміцину (0,01 г/л) і 12 мг/л сироваткового альбуміну людини.

Цей продукт містить 10 мг/л гентаміцину (аміноглікозидний антибіотик).

МАТЕРІАЛИ, ЩО ВХОДЯТЬ В VITRIFICATION WARMING KIT
1 x 4 мл флакон 1,0 M Sucrose Warming Solution (вих. ART-8030-A)

1 x 2 мл флакон 0,5 M Sucrose Warming Solution (вих. ART-8030-B)

1 x 6 мл флакон MOPS Solution (вих. ART-8030-C)

ЗАСТЕРЕЖЕННЯ Й ПОПЕРЕДЖЕННЯ
Попередження: вплив вітрифікації ембріонів на здоров'я народжених в результаті застосування даної процедури дітей в довгостроковій перспективі не вивчено.

Обережно: безпека та ефективність вітрифікації не була повністю оцінена в людських ембріонах, які ще не досягли у своєму розвитку стадії бластоцисти. На сьогоднішній день повідомляється про живонароджених від стадії дроблення ембріонів, вітрифікованих на 3-й день розвитку (Desai et al., 2007) і клінічні вагітності, досягнуті на основі вітрифікованих зигот (Selman & El-Danasouri, 2002).

Обережно: ембріолог, що приступає до вітрифікації ембріонів, повинен прочитати і зрозуміти інструкцію з використання, застереження й попередження і відпрацювати методику використання наборів Vitrification Kit та Vitrification Warming Kit.

Компонент 1,0 M Sucrose Warming Solution (ART-8030-A) в даному наборі містить 12 мг/мл сироваткового альбуміну людини.

Компонент 0,5 M Sucrose Warming Solution (ART-8030-B) в даному наборі містить 12 мг/мл сироваткового альбуміну людини.

Компонент MOPS Solution (ART-8030-C) в даному наборі містить 12 мг/мл сироваткового альбуміну людини.

Цей продукт містить антибіотик сульфат гентаміцину. Повинні бути вжиті відповідні запобіжні заходи, щоб упевнитись, що пацієнт не сенсибілізований до цього антибіотика.

Обережно: федеральний закон США дозволяє продаж цього пристрою тільки за вказівкою лікаря або практикуючого фахівця, навченого його використанню.

Цей продукт містить альбумін, отриманий з крові людини.

Обережно: усі препарати крові вважаються потенційно інфекційними. Вихідний матеріал, з якого був отриманий цей продукт, показав негативний результат при тестуванні на антитіла до ВІЛ-1/ВІЛ-2, ВГС та виявився нереактивним при перевірці на HBsAg, РНК ВГС і РНК ВІЛ-1. Жоден із відомих методів аналізу не може гарантувати відсутність збудників інфекцій у препаратах, виготовлених на основі крові людини. Донори вихідного матеріалу були перевірені на хворобу Крейтцфельдта-Якобса (CJD). Завдяки ефективному обстеженню донорів і процесу виробництва продукту, можна стверджувати, що ризик передачі вірусної інфекції практично відсутній. Теоретичний ризик передачі хвороби Крейтцфельдта-Якобса також вважається вкрай низьким. За весь час використання продукту не було виявлено жодного випадку передачі вірусної інфекції або хвороби Крейтцфельдта-Якобса через альбумін.

Стандартні методи запобігання зараженню в результаті використання медичної продукції, виробленої з крові або плазми людини, включають відбір донорів, обстеження донорського матеріалу і пулів плазми на специфічні маркери інфекції та впровадження ефективних заходів для дезактивації/ліквідації вірусів на виробництві. Незважаючи на ці заходи, можливість передачі збудників інфекції в результаті застосування медичної продукції, виробленої з крові або плазми людини, не може бути виключена повністю. Це стосується також можливості передачі невідомих або нових вірусів і інших патогенів. Випадки передачі вірусів з альбуміном, виробленим відповідно до вимог Європейської фармакопеї за допомогою затверджених виробничих процедур, не описані.

Одноразове використання: з метою попередження контамінації слід працювати з середовищем в стерильних умовах і виливати залишки середовища з флакона або пробірки після закінчення процедури.

Продукти репродуктивного середовища призначені тільки для одноразового використання. Результатом повторного використання середовищ може стати робота з простроченим продуктом і високий ризик мікробної контамінації матеріалу при подальшому проведенні процедури, якщо практикуючий фахівець буде неспроможний застосовувати належні асептичні методики.

При використанні прострочених або заражених середовищ умови in vitro можуть бути значно гірше необхідних для нормального запліднення і розвитку ембріонів. Це може призвести до порушення розвитку ембріонів, їх нездатності до імплантації і, як наслідок, до порушення допоміжної репродуктивної процедури.

Продукти пройшли асептичну обробку й постачаються в стерильному стані.

Примітка: ембріон вважається загальним терміном. Більш точно, SAGE™ розглядає період часу ініціалізації, коли утворюється одиночна диплоїдна клітина при злитті чоловічого та жіночого геному, в результаті чого утворюється зигота з подальшим розвитком від багаторазових мітотичних поділів з утворенням твердої маси або морули (як правило, на 4-5 день), і після якого розвивається заповнена рідиною порожнина, що, в свою чергу, призводить до утворення ембріона (як правило, на 5-6 день), в результаті чого відбувається імплантація ембріона, початок якої припадає на перший тиждень і завершується до кінця другого тижня після запліднення.

ЗАБЕЗПЕЧЕННЯ ЯКОСТІ
Розчини в цьому наборі профільтровані через мембранний фільтр і асептично оброблені відповідно до вимог для процедур цГМФ, сертифікованих на предмет додержання вимог гарантованого рівня стерильності (SAL) 10^{-3}.

Протестовано на одноклітинних ембріонах мишей (MEA). Показано формування 80 % і більше ембріонів. Пройдено тест на ендотоксин USP з результатом < 1 одиниць ендотоксину/мл.

Результати всіх тестів для даного продукту відображаються у відповідному сертифікаті аналізу, що надається за запитом.

НЕОБХІДНІ МАТЕРІАЛИ, ЩО НЕ ВХОДЯТЬ У СКЛАД НАБОРУ
- Стерильні чашки Петрі (50 x 9 мм, Falcon 351006 або еквівалентні) або 4-лункові планшети (з 1 мл лунками, Nunc 176740 або еквівалентні)
- Одноразові рукавички
- Піпетки для пересадки (піпетки з витягнутого скла або кінчики мікропіпетки з внутрішнім діаметром кінчика 200 мкм)
- Пінцети
- Ножиці або скальпель
- Таймер або секундомір
- Резервуар з рідким азотом (резервуар Дюара або з пінополістиролу з кришкою об'ємом 1-2 л)
- LN▯ (з об'ємом, достатнім для покриття кріопробірки або келихоподібної посудини, що містить вітрифіковані бластоцисти)
- Живильне середовище, наприклад, Quinn's Advantage™ Protein Plus Blastocyst Medium (вих. № ART-1529), підготовлене і попередньо врівноважене в культуральній чашці, перед початком процедури розморожування зразків

ІНСТРУКЦІЯ З ВИКОРИСТАННЯ
Компоненти SAGE™ Warming Kit, необхідні для проведення однієї процедури нагрівання ембріона після вітрифікації (не більше 2-х ембріонів в кожній процедурі).
1,0 M Sucrose Warming Solution (1M WS): від 20 мкл до 1 мл
0,5 M Sucrose Warming Solution (0,5M WS): від 40 мкл до 1 мл
MOPS Solution (MS): від 60 мкл до 2 мл

МЕТОДИКА НАГРІВАННЯ ТА ВІДМИВАННЯ
Процедура нагрівання та відмивання проводиться при температурі 35-37 °C. Під час проведення процедури використовуйте скло мікроскопа з підігрівом. Вплив світла на бластоцисти під час інкубації в розчинах для нагрівання необхідно звести до мінімуму. Перед використанням нагрійте розчини до 35-37 °C.

Дивіться інструкцію з використання, яка входить в набір використовуваного пристрою-носія для конкретних інструкцій для цього пристрою.

A. Процедура з використанням мікрокрапельних об'ємів розчинів
1. Наповніть резервуар LN▯ до рівня, що забезпечує повне занурення закріпленої на тримачі кріопробірки або келихоподібної посудини з носієм для вітрифікації, і поставте поряд з криогенним апаратом, в якому знаходиться вітрифікований матеріал, що має бути нагрітий.
   Дістаньте тримачі з келихоподібними посудинами, в яких міститься носій з вітрифікованим ембріоном і миттєво пересадіть їх у резервуар з LN▯ таким чином, щоб носій для вітрифікації постійно був занурений у LN▯.
2. Слід дотримуватися інструкції, що додається до використовуваного пристрою-носія.
3. Поставте резервуар поруч з мікроскопом, щоб забезпечити можливість діяти швидко.
4. Маркіруйте необхідною інформацією стерильну чашку Петрі або кришку чашки.
5. Переконайтеся, що вміст всіх флаконів з розчинами 1M WS, 0,5M WS та MS добре перемішаний акуратним перевертанням кілька разів перед використанням.
6. Нанесіть на дно чашки Петрі в стерильних умовах одну 20 мкл краплю 1M WS і дві 20 мкл краплі 0,5M WS (див. Рис. 1, справа). Три краплі 20 мкл MS будуть приготовлені пізніше, у кроці 12.
7. Працюючи пінцетом, знайдіть потрібний носій для вітрифікації, зафіксований на тримачі в резервуарі з LN▯. В один і той же час можна працювати тільки з одним пристроєм-носієм.
8. Обережно дістаньте носій для вітрифікації з тримача. При цьому та частина носія для вітрифікації, в якій знаходиться ембріон, повинна бути весь час занурена у LN▯.
9. Виконуючи інструкції виробника до використовуваного носія для вітрифікації, негайно (протягом 2 секунд) після зняття з носія захисного чохла занурьте носій для вітрифікації в краплю 1M WS. Середовище змиє ембріони з носія, і вони спливуть у краплю середовища 1M WS. Залиште ембріони в цьому розчині на одну хвилину. Ембріони скоротяться і спливуть на поверхню краплі.

Примітка: після кожної пересадки ембріона(ів) продуйте піпетку для пересадки від залишків рідини і витягніть невелику частину розчину з наступної краплі перед наступною маніпуляцією. Під час пересадок уникайте утворення бульбашок.

10. Наберіть в піпетку для пересадки трохи розчину 0,5M WS, і пересадіть ембріони з 1M WS на дно першої краплі 0,5M WS в мінімальному об'ємі середовища на 2 хвилини.
11. Потім пересадіть ембріони на дно другої краплі розчину 0,5M WS на 2 хвилини.

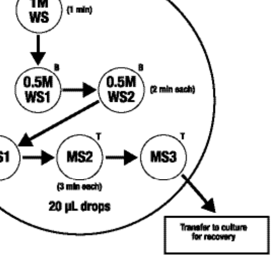
Примітка: в розчині 0,5M WS ембріони будуть залишатись скороченими. В цей час підготуйте три краплі 20 мл MOPS Solution (MS; MS1, MS2, MS3), як показано на Рис. 1 (праворуч).

12. Пересадіть ембріони на дно першої краплі розчину MS (MS1) на 3 хвилини.
13. Пересадіть ембріони на поверхню другої краплі розчину MS (MS2) на 3 хвилини.
14. Пересадіть ембріони на поверхню третьої краплі розчину MS (MS3) на 3 хвилини.
15. Нарешті, пересадіть ембріони в чашку з попередньо врівноваженим відповідним живильним середовищем та інкубуйте у медичному інкубаторі CO_2 при температурі 37 °C протягом 3-4 годин для подальшого відновлення перед пересадкою і/або іншими маніпуляціями.
16. Якщо потрібно нагріти більшу кількість ембріонів, повторіть кроки 6-16, використовуючи свіжі розчини для нагрівання

B. Процедура з використанням великих об'ємів розчинів в 4-лунковому планшеті
Примітка: при використанні 4-лункових планшетів слід вживати заходи обережності, щоб уникнути будь-якого забруднення (наприклад, мікробного, пацієнта, тощо).

1. Наповніть резервуар LN▯ до рівня, що забезпечує повне занурення закріпленої на тримачі кріопробірки або келихоподібної посудини з носієм для вітрифікації, і поставте поряд з криогенним апаратом, в якому знаходяться соломинки, що мають бути нагріті.
2. Дістаньте тримачі з келихоподібними посудинами, в яких міститься носій з вітрифікованим ембріоном і миттєво пересадіть їх у резервуар з LN▯ таким чином, щоб носій для вітрифікації постійно був занурений у LN▯.
3. Слід дотримуватися інструкції, що додається до використовуваного пристрою-носія.

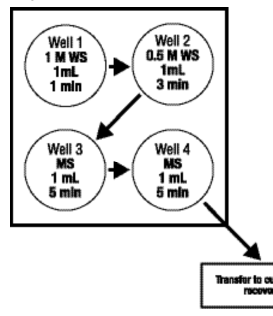
Рис. 1



ПОЯСНЕННЯ:
1M WS=1 M Sucrose Warming Solution
0,5M WS=0,5 M Sucrose Warming Solution
MS=MOPS Solution
→=пересадка ембріона в наступну краплю
T=Поверхня краплі
B=Дно краплі

4. Поставте резервуар поруч з мікроскопом, щоб забезпечити можливість діяти швидко.
5. Маркіруйте необхідною інформацією стерильний 4-лунковий планшет.
6. Переконайтеся, що вміст всіх флаконів з розчинами 1M WS, 0,5M WS та MS добре перемішаний акуратним перевертанням кілька разів перед використанням.
7. В стерильних умовах налийте в лунку 1 планшета 1 мл розчину 1M WS. У лунку 2 планшета налийте 1 мл розчину 0,5M WS. У лунки 3 та 4 налийте по 1 мл розчину MS, як показано на Рис. 2.
8. Працюючи пінцетом, знайдіть потрібний носій для вітрифікації, зафіксований на тримачі в резервуарі з LN▯. В один і той же час можна працювати тільки з одним пристроєм-носієм.
9. Обережно дістаньте соломинку або інший носій для вітрифікації з тримача. Прицьому нижня частина носія, в якій знаходиться ембріон, повинна весь час бути зануреною у LN▯.
10. Виконуючи інструкції виробника до використовуваного носія для вітрифікації, негайно (протягом 2 секунд) після зняття з носія захисного чохла занурьте носій для вітрифікації в лунку 1 планшета, заповнену 1 мл розчину 1M WS. Середовище змиє ембріони з носія, і вони спливуть у краплю середовища 1M WS. Залиште ембріони в цьому розчині на одну хвилину. Ембріони скоротяться і спливуть на поверхню лунки.

Рис. 2



ПОЯСНЕННЯ:
1M WS=1 M Sucrose Warming Solution
0,5M WS=0,5 M Sucrose Warming Solution
MS=MOPS Solution
→=пересадка ембріона в наступну лунку

Примітка: після кожної пересадки ембріона(ів) продуйте піпетку для пересадки від залишків рідини і витягніть невелику частину розчину з наступної краплі перед наступною маніпуляцією. Під час пересадок уникайте утворення бульбашок.

11. Наберіть в піпетку для пересадки трохи розчину 0,5M WS і пересадіть ембріон з лунки 1 в лунку 2, що містить 1 мл розчину 0,5M WS, на 3 хвилини.

Примітка: в розчині 0,5M WS ембріони будуть залишатись скороченими.

12. Пересадіть ембріони на поверхню середовища в лунку 3, заповнену 1 мл розчину MS, на 5 хвилин.
13. Пересадіть ембріони на поверхню середовища в лунку 4, заповнену 1 мл розчину MS, на 5 хвилин.
14. Нарешті, пересадіть ембріони в чашку з попередньо врівноваженим відповідним живильним середовищем та інкубуйте у медичному інкубаторі CO_2 при температурі 37 °C протягом 3-4 годин для подальшого відновлення перед пересадкою і/або іншими маніпуляціями.
15. Якщо потрібно нагріти більшу кількість ембріонів, повторіть кроки 8-14, використовуючи свіжі розчини 1M WS, 0,5M WS та MS.

Кожна лабораторія повинна самостійно визначити конкретні деталі щодо використання для кожної конкретної процедури.

Інформація щодо конкретних аспектів ЕКЗ, вирощування ембріона та кріоконсервації наведена в нашому каталозі продукції.

ПРАВИЛА ЗБЕРІГАННЯ ТА СТАБІЛЬНІСТЬ
Запечатані контейнери зберігати в холодильнику при температурі 2-8 °C. Перед використанням нагріти до температури 35-37 °C. Не заморожувати і не піддавати дії температуру понад 39 °C. Продукти зберігають стабільність до закінчення строку придатності, зазначеного на упаковці.

1. Видаліть потрібний об'єм продукту, використовуючи асептичні процедури. Один флакон, що містить адекватний об'єм розчину, тільки для одноразового використання.
2. Після забору будь-якого об'єму продукту неприпустимо повертати його у вихідний контейнер. Утилізувати продукт, що залишився.
3. Не застосовувати препарат, якщо середовище стало безбарвним, каламутним або має ознаки мікробної контамінації.

ПОСИЛАННЯ
1. Liebermann J, Tucker MJ. 2006 Comparison of vitrification and conventional cryopreservation of day 5 and day 6 blastocysts during clinical application. Fertil Steril 86:20-26.
2. Takahashi K, Mukaida T, Goto T, Oka C. 2005 Perinatal outcome of blastocyst transfer with vitrification using cryoloop: a 4-year follow-up study. Fertil Steril 84;88-92.
3. Raju GAR, Haranath GB, Krishna KM, et al. 2005 Vitrification of human 8-cell embryos, a modified protocol for better pregnancy rates. Reprod Biomed Online 11:434-437.
4. Hiraoka K, Hiraoka K, Kinutani M, et al. 2004 Blastocoele collapse by micropipetting prior to vitrification gives excellent survival and pregnancy outcomes for human day 5 and 6 expanded blastocysts. Human Reprod 19:2884-2888.
5. Stehlik E, Stehlik J, Katayama KP, et al. 2005 Vitrification demonstrates significant improvement versus slow freezing of human blastocysts. Reprod Biomed Online 11:53-57.
6. Vierzwalmen P, Bertin G, Debauche Ch, et al. 2003 Vitrification of human blastocysts with the hemistraw carrier: application of assisted hatching after thawing. Human Reprod 18:1504-1511.
7. Kuwayama M, Vajta G, Leda S, et al. 2005 Comparison of open and closed methods for vitrification of human embryos and the elimination of potential contamination. Reprod Biomed Online 11:608-614.
8. Desai N, Blackmon H, Szeptycki J, et al. 2007 Cryoloop vitrification of human day 3 cleavage-stage embryos: post-vitrifcation development, pregnancy outcomes and live births. Reprod Biomed Online 14:208-213.
9. Selman HA, El-Danasouri I. 2002 Pregnancies derived from vitrified human zygotes. Fertil Steril 77:422-423.
10. Camus A, Clairaz P, Ersham A, et al. 2007 Comparison of the processes of five different Vitrification devices. Gynecol Obstet Fertil 34:737-745.

СУПУТНІ ПРОДУКТИ
ART 8025 SAGE™ Vitrification Kit

SAGE In Vitro Fertilization™ має повну лінійку продуктів, призначених для репродуктивної медицини. Будь ласка, телефонуйте або пишіть для отримання докладної інформації або щоб отримати примірник нашого поточного каталогу. З технічних питань або для звернення в наш відділ обслуговування клієнтів телефонуйте за номером служби підтримки SAGE™.

ТЕЛЕФОН ПІДТРИМКИ SAGE™:
У США: (800) 243-2974
Міжнародний: (203) 601-9818

UA.TR.099

Пояснення символів
HAS Містить: розчин альбуміну людини.
GENT Містить: Гентаміцину.

CooperSurgical, Inc.
95 Corporate Drive
Trumbull, CT 06611 USA

EC REP
ORIGIO a/s
Knardrupvej 2
2760 Måløv
Denmark
www.fertility.coopersurgical.com
Tel: +45 46 79 02 00

Customer Service:
E-mail: sales@coopersurgical.com