



## EN Instructions for the Use of global® DMSO Blastocyst Vitrification Kit

### PRECAUTIONS AND WARNINGS

- Caution:** Federal Law (USA) restricts this device to sale by or on the order of a physician (or properly licensed practitioner).
- Caution:** The user should read and understand the Instructions for Use, Precautions and Warnings, and be trained in the correct procedure before using global® DMSO Blastocyst Vitrification Kit.
- Warning:** The long term safety of blastocyst vitrification on children born from this procedure is unknown.
- Warning:** The safety and effectiveness of vitrification has not been fully evaluated in human embryos that have not yet reached the blastocyst stage of development.
- Not to be used for injection.
- Do not resterilize.
- Do not use the product if:
  - the product packaging appears damaged or if the seal is broken
  - the expiry date has been exceeded
  - the product becomes discolored, cloudy, or shows evidence of particulate matter
- This product contains human serum albumin, a derivative of human blood. The human serum albumin used in the preparation of this product has been heated at 60°C for ten hours.
- Caution:** Standard measures to prevent infections resulting from the use of medicinal products prepared from human blood or plasma include selection of virus free donors 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 infectious agents cannot be totally excluded. This also applies to unknown or emerging viruses and other pathogens. There are no reports of virus transmissions from albumin manufactured to European Pharmacopoeia standards by established processes. It is strongly recommended that every time that global® DMSO Blastocyst Vitrification Kit is administered to a patient, the name and batch number of the product are recorded in order to maintain a link between the patient and the batch of the product.
- global® DMSO Blastocyst Vitrification Kit contains the antibiotic gentamicin sulfate. Appropriate precautions should be taken to ensure that the patient is not sensitized to this antibiotic.
- To avoid problems with contamination, practice aseptic techniques.
- Use a legally marketed carrier and storage device appropriate for blastocyst vitrification procedures.
- Use a closed storage system to prevent the potential risk of viral contamination and do not use open storage systems where the sample comes in direct contact with liquid nitrogen.
- The rate of cooling in the carrier and storage device should be between 1.800 to 20.000 °C/min. (Camus et al., 2006)
- The global® DMSO Blastocyst Vitrification Kit is intended for **single use only** (the vitrification of blastocysts from one patient on one day). Discard any unused product after opening.

### GENERAL INFORMATION

#### Indications for Use

For vitrification (ultra-rapid freezing) and cryostorage of human blastocysts.

#### Storage and Shelf Life

Store at 2-8°C and protected from light. One (1) year from the date of manufacture.

#### Disposal Consideration

Treat or dispose of waste material in accordance with all local/state/provincial, and national requirements. Dispose with laboratory waste.

#### Composition – base components

Sodium Chloride, Potassium Chloride, Calcium Chloride, Potassium Phosphate, Magnesium Sulfate, Sodium Bicarbonate, Glucose, Lactate Na Salt, Sodium Pyruvate, Glycine, L-Alanine, L-Arginine HCl, L-Asparagine, L-Aspartic Acid, L-Cystine, L-Glutamic Acid, Glycyl-Glutamine, L-Histidine, L-Isoleucine, L-Leucine, L-Lysine HCl, L-Methionine, L-Phenylalanine, L-Proline, L-Serine, L-Threonine, L-Tryptophane, L-Tyrosine, L-Valine, EDTA, Phenol Red, HEPES, Gentamicin Sulfate (10 µg/ml)

Equilibration Solution	Vitrification Solution
Dimethyl Sulfoxide (7.5% v/v)	Dimethyl Sulfoxide (15% v/v)
Ethylene Glycol (7.5% v/v)	Ethylene Glycol (15% v/v)
Human Serum Albumin* (10 mg/ml)	Sucrose (0.5 M)
	Human Serum Albumin* (10 mg/ml)

\*from therapeutic-grade source material

### QUALITY CONTROL SPECIFICATIONS

The solutions in the global® DMSO Blastocyst Vitrification Kit are membrane filtered and aseptically processed according to GMP procedures which have been validated to meet a sterility assurance level (SAL) of 10<sup>-6</sup>.

Physicochemical Tests	Assay (performed for each batch)	Specification
pH – Equilibration and Vitrification Solutions	7.1-7.5	7.1-7.5
Osmolality – Equilibration Solution	2600-3500 mOsm	2600-3500 mOsm
Osmolality – Vitrification Solution	4900-6600 mOsm	4900-6600 mOsm
<b>Biological Tests</b>		
Endotoxin (LAL) – Equilibration and Vitrification Solutions		≤ 1.0 EU/ml
Sterility Test (bacterial and fungal screen, SAL 10 <sup>-6</sup> )		PASS
<b>Biological Assays</b>		
1-cell Mouse Embryo Assay (% expanded blastocysts at 96 h of culture following step-in, step-out of vitrification and warming solutions)		≥ 80%
<b>EMBRYO GPS® DISHS</b>		
Endotoxin (LAL)		< 20 EU/device
1-cell Mouse Embryo Assay (% blastocysts at 96 h of culture)		≥ 80%

### INSTRUCTIONS FOR USE

- The vitrification procedure and all manipulation of blastocysts are carried out on a room temperature (20-27°C). Bring the Equilibration and Vitrification solutions to room temperature and mix gently each vial before use.
- Fill the liquid nitrogen reservoir with liquid nitrogen to a sufficient depth to submerge a gobelet on a cryocane and place near to microscope.
- Follow the instructions that accompany the carrier device. Label with necessary information.
- Aseptically pipette 20 µl of Equilibration Solution (ES) into a Petri dish.
- Transfer the blastocyst(s) (no more than 2) with a minimum amount of culture media to the drop of ES. Allow the blastocyst(s) to equilibrate for 15 to 15 minutes.
- While the blastocyst(s) are equilibrating in ES, dispense four 20 µl drops of the Vitrification Solution (VS) into the Petri dish (VS1, VS2, VS3 and VS4). Important: The amount of time between first placing the blastocyst(s) in VS1 and immersion into liquid nitrogen should not exceed the time 10 seconds.
- Aspirate some of VS1 in transfer pipette and transfer the blastocyst(s) into the drop VS1 and hold for 5 seconds.
- Quickly transfer the blastocyst(s) from VS1 to VS2, and hold for 5 seconds.
- Quickly transfer the blastocyst(s) from VS2 to VS3 and hold for 10 seconds.
- Finally, transfer the blastocyst(s) from VS3 to VS4. Load blastocyst(s) from VS4into the vitrification device.
- For the vitrification procedure, follow the instructions that accompany the vitrification carrier device.
- Storage in liquid nitrogen:** (all these procedures should be done with the vitrified sample fully immersed under liquid nitrogen to prevent any inadvertent warming). Transfer the vitrified sample into an appropriately labeled goblet attached to a cryocane. Transfer the cryocane to a storage tank of liquid nitrogen.
- If more blastocysts are to be vitrified, repeat step 4-11 using fresh drops of ES and VS in a new dish.

- Camus A, Clairaz P, Ersham A, Van Kappel AL, Savic G, Staub C (2006) [The comparison of the process of five different vitrification devices]. *Gynecol Obstet Fertl* 34, 737-45.
- Kuwayama M, Vajta G, Ieda S, Kato O (2005) Comparison of open and closed methods for vitrification of human embryos and the elimination of potential contamination. *Reprod Biomed Online* 11, 608-14

### SYMBOLS

STERILE   A	RX Only	REF	LOT	i	Factory	Temp. & Light Protection	Temp. Limitation
Sterile Use Only Aseptic Processing Technique	By Prescription Only	Catalogue Number	Batch Code	Consult the device manual	Factory	Temp. & Light Protection	Temperature Limitation
EC   REP	Do not Reuse	Do not Reuse	GS1 DataMatrix Barcode	Do not Reuse	Do not Reuse	Do not Use if Package is Damaged	
Authorized Representative in the European Community	Use by	Do not Reuse	GS1 DataMatrix Barcode	Do not Reuse	Do not Reuse	Do not Use if Package is Damaged	

## FR Mode d'emploi de global® DMSO Kit de vitrification de blastocystes

(Références catalogue: DMV5-005)

### PRÉCAUTIONS ET MISES EN GARDE

- Attention:** Selon la loi fédérale américaine, ce dispositif ne peut être vendu que par un médecin ou sur prescription médicale (ou par un praticien agréé).
- Attention:** L'utilisateur doit lire et comprendre le mode d'emploi, les précautions et mises en garde, et avoir reçu une formation sur la procédure adéquate avant d'utiliser global® DMSO Kit de vitrification de blastocystes pour la vitrification des blastocystes humains.
- Mise en garde** : La sécurité à long terme de la vitrification des blastocystes sur les enfants nés à l'issue de cette procédure est inconnue.
- Mise en garde** : La sécurité et l'efficacité de la vitrification n'ont pas été entièrement évaluées sur les embryons humains n'ayant pas encore atteint le stade de développement du blastocyste.
- Ne convient pas pour une injection.
- Ne pas resteriliser.
- Produit ne peuvent être utilisés si:
  - le produit emballage apparaît endommagé ou si le scellage est endommagé
  - la date de péremption est dépassée
  - le produit est décoloré, trouble ou montre des signes de particules étrangères
- Ce produit contient de l'albumine sérique humaine, un dérivé du sang humain. L'albumine sérique humaine utilisée dans la préparation de ce produit a été chauffée à 60°C pendant dix heures.
- Attention:** Les mesures standard visent à prévenir les infections résultant de l'utilisation de médicaments préparés à partir de sang ou plasma humain comprennent la sélection de donneurs sains, le dépistage de marqueurs spécifiques d'infections dans les dons individuels et les pools de plasma et l'inclusion de étapes de fabrication d'élimination des virus. En dépit de ces mesures, le risque de transmission d'agents infectieux ne peut être totalement exclu lors d'administrations de médicaments préparés à partir de sang ou plasma humain. Ceci s'applique aussi à des virus inconnus ou émergents ou à d'autres agents pathogènes. Aucun cas de transmission virale n'a été rapporté avec l'albumine fabriquée selon les procédures établies dans les respect des spécifications de la Pharmacopée Européenne. A chaque administration de global® DMSO Kit de vitrification de blastocystes chez un patient, il est fortement recommandé de consigner le nom et le numéro de lot du produit afin de pouvoir à tout moment faire le lien entre le patient et le lot du produit.
- global® DMSO Kit de vitrification de blastocystes contient du sulfate de gentamicine, un antibiotique. Il convient de prendre les mesures de précaution nécessaires pour éviter que le patient ne soit sensibilisé à cet antibiotique.
- Utiliser des techniques aseptiques pour éviter tout problème de contamination.
- Utiliser un support commercialisé légalement et un dispositif de conservation approprié pour les procédures de vitrification des blastocystes.
- Utiliser un système de conservation fermé afin d'éviter tout risque potentiel de contamination virale et les pas utilisés de systèmes de conservation ouverts dans lesquels l'échantillon est en contact direct avec de l'azote liquide.
- La vitesse de refroidissement dans le support et le dispositif de conservation doit se situer entre 1.800 et 20.000 °C/min. (Camus et al., 2006)
- Le global® DMSO Kit de vitrification de blastocystes est destiné à un **usage unique** (la vitrification de blastocystes d'une patiente un jour donné). Jeter le produit non utilisé après ouverture.

- Ne pas utiliser ce produit si:
  - le emballage du produit semble détérioré ou si le scellage est endommagé
  - la date de péremption est dépassée
  - le produit est décoloré, trouble ou montre des signes de particules étrangères
- Ce produit contient de l'albumine sérique humaine, un dérivé du sang humain. L'albumine sérique humaine utilisée dans la préparation de ce produit a été chauffée à 60°C pendant dix heures.
- Attention:** Les mesures standard visent à prévenir les infections résultant de l'utilisation de médicaments préparés à partir de sang ou plasma humain comprennent la sélection de donneurs sains, le dépistage de marqueurs spécifiques d'infections dans les dons individuels et les pools de plasma et l'inclusion de étapes de fabrication d'élimination des virus. En dépit de ces mesures, le risque de transmission d'agents infectieux ne peut être totalement exclu lors d'administrations de médicaments préparés à partir de sang ou plasma humain. Ceci s'applique aussi à des virus inconnus ou émergents ou à d'autres agents pathogènes. Aucun cas de transmission virale n'a été rapporté avec l'albumine fabriquée selon les procédures établies dans le respect des spécifications de la Pharmacopée Européenne. A chaque administration de global® DMSO Kit de vitrification de blastocystes chez un patient, il est fortement recommandé de consigner le nom et le numéro de lot du produit afin de pouvoir à tout moment faire le lien entre le patient et le lot du produit.
- global® DMSO Kit de vitrification de blastocystes contient du sulfate de gentamicine, un antibiotique. Il convient de prendre les mesures de précaution nécessaires pour éviter que le patient ne soit sensibilisé à cet antibiotique.
- Utiliser des techniques aseptiques pour éviter tout problème de contamination.
- Utiliser un support commercialisé légalement et un dispositif de conservation approprié pour les procédures de vitrification des blastocystes.
- Utiliser un système de conservation fermé afin d'éviter tout risque potentiel de contamination virale et les pas utilisés de systèmes de conservation ouverts dans lesquels l'échantillon est en contact direct avec de l'azote liquide.
- La vitesse de refroidissement dans le support et le dispositif de conservation doit se situer entre 1.800 et 20.000 °C/min. (Camus et al., 2006)
- Le global® DMSO Kit de vitrification de blastocystes est destiné à un **usage unique** (la vitrification de blastocystes d'une patiente un jour donné). Jeter le produit non utilisé après ouverture.

### INFORMATIONS GÉNÉRALES

#### Indications d'utilisation

Pour la vitrification (congélation ultra-rapide) et la cryoconservation de blastocystes humains.

#### Conditions et durée de conservation

À conserver entre 2 et 8°C et à l'abri de la lumière. Un (1) an à partir de la date de fabrication.

#### Considération en matière d'élimination

Traiter ou éliminer les déchets conformément à l'ensemble des réglementations locales et nationales en vigueur. Éliminer avec les déchets de laboratoire.

#### Composition – composants de base

Chlorure de sodium, Chlorure de potassium, Chlorure de calcium, Phosphate de potassium, Sulfate de magnésium, Bicarbonate de sodium, Glucose, Lactate Na, Sodium Pyruvate, Glycine, L-Alanine, L-Arginine HCl, L-Asparagine, Acide L-aspartique, L-Cystine, L-Glutamique, Glycyl-Glutamine, L-Histidine, L-Isoleucine, L-Leucine, L-Lysine HCl, L-méthionine, L-Phénylalanine, L-Proline, L-Sérine, L-Thréonine, L-Tryptophane, L-Tyrosine, L-Valine, EDTA, Rouge de phénol, HEPES, Sulfate de gentamicine\* (10 µg/ml)

Solution d'équilibrage	Solution de vitrification
Diméthylsulfoxyde (7,5% v/v)	Diméthylsulfoxyde (15% v/v)
Ethylène glycol (7,5% v/v)	Ethylène glycol (15% v/v)
Saccharose (0,5 M)	Saccharose (0,5 M)
Albumine sérique humaine* (10 mg/ml)	Albumine sérique humaine* (10 mg/ml)

\*un provenance de matériel de qualité thérapeutique

### SPÉCIFICATIONS DU CONTRÔLE DE QUALITÉ

Les solutions contenues dans global® DMSO Kit de vitrification de blastocystes sont filtrées sur membrane et traitées de manière aseptique conformément aux procédures cGMP qui ont été validées pour répondre à un niveau d'assurance de stérilité (SAL) de 10<sup>-6</sup>.

Test effectué pour chaque lot	Spécification
<b>Tests physicochimiques</b>	
pH – Solution d'équilibrage et de vitrification	7.1-7.5
Osmolalité – Solution d'équilibrage	2600-3500 mOsm
Osmolalité – Solution de vitrification	4900-6600 mOsm
<b>Tests biologiques</b>	
Endotoxine (LAL) – Solution d'équilibrage et de vitrification	≤ 1.0 EU/ml
Test de stérilité (dépistage bactérien et fongique, SAL 10 <sup>-6</sup> )	REUSS
<b>Tests biologiques</b>	
Test sur embryon de souris (% de blastocystes développés après 96 h en culture)	≥ 80%
<b>BOÎTES EMBRYO GPS®</b>	
Endotoxine (LAL)	< 20 EU/dispositif
Test sur embryon de souris 1 cellule (% de blastocystes après 96 h en culture)	≥ 80%

### MODE D'EMPLOI

- La procédure de vitrification et toutes les manipulations des blastocystes sont effectuées à température ambiante (20-27°C). Porter les solutions d'équilibrage et de vitrification à température ambiante et mélanger doucement chaque ampoule avant utilisation.
- Remplir le réservoir d'azote liquide jusqu'à une profondeur suffisante pour immerger une coupe sur une canne de cryogénération et la placer à proximité du microscope.
- Suivre les instructions qui accompagnent le dispositif de support de vitrification. Étiqueter à l'aide des informations nécessaires.
- Pipeter aseptiquement 20 µl de solution d'équilibrage (SE) dans une boîte Petri.
- Transférer le(s) blastocyste(s) (pas plus de 2) avec une quantité minimale de milieu de culture dans la goutte de SE. Laisser le(s) blastocyste(s) s'équilibrer pendant 5 à 15 minutes.
- Pendant que le(s) blastocyste(s) s'équilibrent(n) dans la SE, déposer quatre gouttes de 20 µl de solution de vitrification (SV) dans la boîte Petri (SV1, SV2, SV3 et SV4). Important : le délai entre le premier dépôt de blastocyste(s) dans SV1 et l'immersion dans l'azote liquide ne doit pas dépasser 10 secondes.
- Aspirer une partie de SV1 dans la pipette de transfert et transférer le(s) blastocyste(s) dans la goutte SV1 et attendre 5 secondes.
- Transférer rapidement le(s) blastocyste(s) de SV1 vers SV2 et attendre 5 secondes.
- Transférer rapidement le(s) blastocyste(s) de SV2 vers SV3 et attendre 10 secondes.
- Enfin, transférer rapidement le(s) blastocyste(s) de SV3 vers SV4. Charger le(s) blastocyste(s) de SV4 dans le dispositif de vitrification.
- Pour la vitrification, suivez les instructions qui accompagnent le dispositif de support de vitrification.
- Conservation dans l'azote liquide** : (toutes ces procédures doivent être effectuées avec l'échantillon vitrifié totalement immergé dans l'azote liquide afin d'éviter tout réchauffement par condensation). Transférer l'échantillon vitrifié dans une coupe correctement étiquetée fixée à une canne de cryogénération. Transférer la cryocanne dans un réservoir de conservation d'azote liquide.
- Si d'autres blastocystes doivent être vitrifiés, répéter les étapes 4-11 en utilisant des gouttes fraîches de SE et SV dans une nouvelle boîte.

### Références

- Camus A, Clairaz P, Ersham A, Van Kappel AL, Savic G, Staub C (2006) [The comparison of the process of five different vitrification devices]. *Gynecol Obstet Fertl* 34, 737-45.
- Kuwayama M, Vajta G, Ieda S, Kato O (2005) Comparison of open and closed methods for vitrification of human embryos and the elimination of potential contamination. *Reprod Biomed Online* 11, 608-14

### SYMBOLS

STERILE   A	RX Only	REF	LOT	i	Factory	Temp. & Light Protection	Temp. Limitation
Sterile requis à des fins d'utilisation aseptique	Sur prescription médicale uniquement	Référence catalogue	Code de lot	Consultez le mode d'emploi	Factory	Temp. & Light Protection	Limite de température
EC   REP	Ne pas réutiliser	Ne pas réutiliser	GS1 DataMatrix Barcode	Ne pas réutiliser	Ne pas réutiliser	Ne pas utiliser si l'emballage est endommagé	
Représentant autorisé en Communauté Européenne	Date limite d'utilisation	Ne pas réutiliser	GS1 DataMatrix Barcode	Ne pas réutiliser	Ne pas réutiliser	Ne pas utiliser si l'emballage est endommagé	

## DE Verwendungshinweise für global® DMSO Blastocyst Vitrification Kit

(Bestellnummer: DMV5-005)

### VORSICHTSMASSNAHMEN UND WARNUNGEN

- Achtung:** Laut Bundesgesetz (USA) darf dieses Produkt nur durch einen Arzt oder auf Anweisung eines Arztes (oder eines ordnungsgemäß lizenzierten Medizinischen Verkäufers) verwendet werden.
- Achtung:** Der Benutzer sollte die Verwendungshinweise, Vorsichtsmaßnahmen und Warnungen lesen und verstehen sowie vor der Verwendung des global® DMSO Blastocyst Vitrification Kit zur Vitrifikation von menschlichen Blastozysten im korrekten Umgang damit geschult werden.
- Warnhinweise:** Die langfristige Sicherheit der Vitrifikation von Blastozysten für Kinder, die mithilfe dieses Verfahrens geboren wurden, ist noch nicht bekannt.
- Warnhinweise:** Die Sicherheit und Wirksamkeit der Vitrifikation bei menschlichen Embryonen, die noch nicht das Entwicklungsstadium der Blastozyste erreicht haben, wurden noch nicht vollständig bewertet.
- Darf nicht in Injektion verwendet werden.
- Nicht resterilisieren.
- Produkt nicht verwenden, wenn:
  - Das Halbdichtung überstrichen wurde
  - Die Produktverpackung beschädigt oder das Siegel gebrochen ist
  - Das Halbdichtung überstrichen wurde
  - Das Produkt verfärbt oder trübe ist oder Anzeichen von Verschmutzungen aufweist
- Dieses Produkt enthält Humanserumalbumin, das aus menschlichem Blut stammt. Das in diesem Produkt verwendete Humanserumalbumin wurde 10 Stunden lang bei 60 °C inaktiviert.
- Achtung:** Standardmaßnahmen zur Vermeidung von Infektionen, die durch die Verwendung von Arzneimitteln aus menschlichem Blut oder Plasma entstehen, beinhalten die Auswahl von Spendern, das Screening individueller Spenden sowie Plasmaspuren für spezifische Infektionsmarker und die Aufnahme effektiver Inaktivierungsschritte zur Inaktivierung von Viren. Dennoch kann bei aus menschlichem Blut oder Plasma hergestellten Arzneimitteln die Möglichkeit einer Übertragung von Erregern nicht völlig ausgeschlossen werden. Dies gilt auch für unbekannt oder neu auftretende Viren und andere Pathogene. Es liegen keine Berichte über Virusübertragungen mit Albumin vor, das nach etablierten Verfahren gemäß den Spezifikationen des Europäischen Arzneibuchs hergestellt wurde. Es wird dringend empfohlen, jedes Mal, wenn ein global® DMSO Blastocyst Vitrification Kit an einen Patienten verabreicht wird, den Namen und die Chargennummer des Produkts aufzuzeichnen, um eine Verbindung zwischen dem Patienten und der Charge des Produkts aufzunehmen.
- Das global® DMSO Blastocyst Vitrification Kit enthält das Antibiotikum Gentamicinsulfat. Es sind entsprechende Vorsichtsmaßnahmen zu treffen, um Verschmutzungen, dass der Patient gegenüber dem Antibiotikum nicht sensibilisiert ist.
- Im Problem durch Verunreinigungen zu vermeiden, muss unter aseptischen Bedingungen gearbeitet werden.
- Verwenden Sie eine rechtmässige in den Verkehr gebrachte Träger- und Lagerungsvorrichtung, die für Vitrifikationsverfahren von Blastozysten geeignet ist.
- Verwenden Sie ein geschlossenes Lagerungssystem, um dem potenziellen Risiko einer viralen Kontamination vorzubeugen, und verwenden Sie keine offenen Lagerungssysteme, bei denen die Probe in direktem Kontakt mit flüssigem Stickstoff kommt.

- Die Abkühlgeschwindigkeit in der Träger- und Lagerungsvorrichtung sollte zwischen 1800 und 20.000 °C/min liegen. (Camus et al., 2006)
- Das global® DMSO Blastocyst Vitrification Kit ist nur zum **Einmalgebrauch** (der Vitrifikation von Blastozysten von einer Patientin an einem Tag) bestimmt. Reste des unbenutzten Produktes sind nach dem Öffnen zu entsorgen.

### ALLGEMEINE INFORMATIONEN

#### Anwendungshinweise

Zur Vitrifikation (extrem schnelles Einfrieren) und zur Kryolagerung von menschlichen Blastozysten.

#### Lagerung und Haltbarkeit

Bei 2-8 °C und vor Licht geschützt lagern. Ein (1) Jahr ab dem Datum der Herstellung.

#### Hinweise zur Entsorgung

Abfallmaterialien in Übereinstimmung mit allen lokalen und nationalen Anforderungen behandeln oder entsorgen. Zusammen mit Laborabfall entsorgen.

#### Zusammensetzung – Basiskomponenten

Natriumchlorid, Kaliumchlorid, Calciumchlorid, Magnesiumsulfat, Natriumbicarbonat, Glucose, Natriumcitrat, Natriumpyruvat, Glycin, L-Alanin, L-Asparagin, L-Alanine, L-Arginin, L-Asparagin, L-Asparaginsäure, L-Cystein, L-Glutaminsäure, Glycyl-Glutamin, L-Histidin, L-Isoleucin, L-Leucin, L-Lysin, Hydrochlorid, L-Methionin, L-Phenylalanin, L-Prolin, L-Serin, L-Threonin, L-Tryptophan, L-Tyrosin, L-Valin, EDTA, Phenolrot, HEPES, Gentamicinsulfat\* (10 µg/ml)

Aquibrierungslösung	Vitrifikationslösung
Dimethylsulfoxid (7,5% v/v)	Dimethylsulfoxid (15% v/v)
Ethylenglycol (7,5% v/v)	Ethylenglycol (15% v/v)
Humanserumalbumin* (10 mg/ml)	Saccharose (0,5 M)
	Humanserumalbumin* (10 mg/ml)

\*Aus Ausgangsmaterial von therapeutischer Qualität

### DATEN ZUR QUALITÄTSKONTROLLE

Die Lösungen im global® DMSO Blastocyst Vitrification Kit werden nach cGMP-Verfahren membranfiltriert und aseptisch verarbeitet, die für die Erfüllung eines Sterilitätsicherungsniweaus (SAL) von 10<sup>-6</sup> validiert wurden.

Assay (wird für jede Charge durchgeführt)	Spezifikation
<b>Physikalisch-chemische Tests</b>	
pH – Äquibrierungs- und Vitrifikationslösungen	7.1-7.5
Osmolalität – Äquibrierungslösung	2600-3500 mOsm
Osmolalität – Vitrifikationslösung	4900-6600 mOsm
<b>Biologische Tests</b>	
Endotoxin (LAL) – Äquibrierungs- und Vitrifikationslösungen	≤ 1.0 EU/ml
Sterilitätstest (Test auf Bakterien und Pilze, SAL 10 <sup>-6</sup> )	PASS
<b>Biologische Assays</b>	
1-cell Embryo-Assay im 1-Zell-Stadium (% expandierte Blastozysten nach 96 h Kultur nach dem Eintreten, Austreten aus den Vitrifikations- und Aufwärmungsstadien)	≥ 80%
<b>EMBRYO GPS®SCHALEN</b>	
Endotoxin (LAL)	< 20 EU/Produkt
Maus-Embryo-Assay im 1-Zell-Stadium (% Blastozysten nach 96 h Kultur)	≥ 80%

### GEBRAUCHSANWEISUNG

- Das Vitrifikationsverfahren und alle Manipulationen der Blastozysten werden bei Raumtemperatur (20-27 °C) durchgeführt. Die Äquibrierungs- und Vitrifikationslösungen auf Raumtemperatur bringen und vor der Anwendung jedes Fläschchen vorsichtig mischen.
- Das Flüssigkeit-Reservoir mit Flüssigstickstoff bis zu einer ausreichenden Höhe füllen, um einen Becher mit einem CryoCane darin einzutauchen, und neben das Mikroskop stellen.
- Die Anweisungen, die der Vitrifikationsträgeranordnung beiliegen, befolgen. Mit den nötigen Informationen beschriften.
- 20 µl der Äquibrierungslösung (ES) aseptisch in eine Petri-Schale pipettieren.
- Die Blastozyste(n) (nicht mehr als 2) mit einer möglichst geringen Menge des Kulturmediums in den Tropfen ES überführen. Die Blastozyste(n) 5 bis 15 Minuten lang äquibilieren.
- Während die Blastozyste(n) in ES äquibilieren, vier Tropfen zu je 20 µl der Vitrifikationslösung (VS) in die Petrischale geben (VS1, VS2, VS3 und VS4). Wichtig: Die Zeitspanne zwischen dem ersten Transfer der Blastozyste(n) in VS1 und dem Eintauchen in Flüssigstickstoff sollte eine Dauer von 10 bis 10 Sekunden nicht überschreiten.
- Etwas VS1 in eine Transferpipette aspirieren und die Blastozyste(n) in den Tropfen VS1 überführen und 5 Sekunden lang darin belassen.
- Die Blastozyste(n) schnell von VS1 in VS2 überführen und 5 Sekunden lang darin belassen.
- Die Blastozyste(n) schnell von VS2 in VS3 überführen und 10 Sekunden lang darin belassen.
- Schließlich die Blastozyste(n) von VS3 in VS4 überführen. Die Blastozyste(n) von VS4 in die Vitrifikationsvorrichtung einbringen.
- Für das Vitrifikationsverfahren die Anweisungen, die der Vitrifikationsträgeranordnung beiliegen, befolgen.

**Aufbewahrung in Flüssigstickstoff:** (Alle diese Verfahren sollten durchgeführt werden, während die vitrifizierte Probe vollständig in Flüssigstickstoff eingetaucht ist.) Für die Vitrifikation, Erwärme und Verahren. Die vitrifizierte Probe in einen entsprechend beschrifteten Becher mit einem CryoCane übertragen. Den CryoCane in einen Lagerkasten mit Flüssigstickstoff überführen.

Wenn weitere Blastozysten vitrifiziert werden sollen, die Schritte 4–11 mit frischen Tropfen ES und VS in einer neuen Petrischale wiederholen.

- Camus A, Clairaz P, Ersham A, Van Kappel AL, Savic G, Staub C (2006) [The comparison of the process of five different vitrification devices]. *Gynecol Obstet Fertl* 34, 737-45.
- Kuwayama M, Vajta G, Ieda S, Kato O (2005) Comparison of open and closed methods for vitrification of human embryos and the elimination of potential contamination. *Reprod Biomed Online* 11, 608-14

### SYMBOLS

