

## Набор для созревания ооцитов in-vitro

Предназначено исключительно для проведения лабораторных процедур. Пользователь обязан ограничить использование сред в других целях.		
Описание продукта	Кат.№	Фасовка
Набор для созревания ооцитов in-vitro	Кат.№ ART-1600	1x50мл 1x20мл 1x5мл

### Назначение:

Набор предназначен для созревания незрелых ооцитов *in vitro*, их последующего оплодотворения и культивирования эмбрионов. Набор сред позволяет проводить полный цикл культивирования – от незрелого ооцита до эмбриона, пригодного для переноса.

### Состав набора:

- Средства для промывки ооцитов Кат.№ ART-1600-A 1 x 50мл
- Средства для созревания ооцитов Кат.№ ART-1600-B 1 x 20мл
- Средства для поддержки эмбрионов Кат.№ ART-1600-C 1 x 5мл

### Состав сред

	Среды для промывки ооцитов Кат.№ ART-1600-A	Среды для созревания ооцитов Кат.№ ART-1600-B	Среды для поддержки эмбрионов Кат.№ ART-1600-C
<b>Базовые компоненты</b>			
<ul style="list-style-type: none"> <li style="width: 50%;">• Вода стерильная</li> <li style="width: 50%;">• Кальция хлорид</li> <li style="width: 50%;">• Гентамицин</li> <li style="width: 50%;">• Натрия бикарбонат</li> <li style="width: 50%;">• Глюкоза</li> <li style="width: 50%;">• Натрия пируват</li> <li style="width: 50%;">• Сывороточный альбумин человека</li> <li style="width: 50%;">• Натрия фосфат</li> <li style="width: 50%;">• Калия хлорид</li> <li style="width: 50%;">• Натрия хлорид</li> <li style="width: 50%;">• Феноловый красный</li> </ul>	+	+	+
<b>Заменяемые аминокислоты</b>			
<ul style="list-style-type: none"> <li style="width: 50%;">• Аланил-глутамин</li> <li style="width: 50%;">• Глицин</li> <li style="width: 50%;">• Аспарагин</li> <li style="width: 50%;">• Пролин</li> <li style="width: 50%;">• Аспарагиновая кислота</li> <li style="width: 50%;">• Серин</li> </ul>	+	+	+
<b>Незаменимые аминокислоты</b>			
<ul style="list-style-type: none"> <li style="width: 50%;">• Аргинин</li> <li style="width: 50%;">• Метионин</li> <li style="width: 50%;">• Валин</li> <li style="width: 50%;">• Тирозин</li> <li style="width: 50%;">• Гистидин</li> <li style="width: 50%;">• Треонин</li> <li style="width: 50%;">• Изолейцин</li> <li style="width: 50%;">• Триптофан</li> <li style="width: 50%;">• Лейцин</li> <li style="width: 50%;">• Фенилаланин</li> <li style="width: 50%;">• Лизин</li> <li style="width: 50%;">• Цистин</li> </ul>	+	+	+
<b>Витамины</b>			
<ul style="list-style-type: none"> <li style="width: 50%;">• Кальция пантотенат</li> <li style="width: 50%;">• Пиридоксина гидрохлорид</li> <li style="width: 50%;">• Холина хлорид</li> <li style="width: 50%;">• Рибофлавин</li> <li style="width: 50%;">• Фолиевая кислота</li> <li style="width: 50%;">• Тиамин</li> <li style="width: 50%;">• Инозитол</li> <li style="width: 50%;">• Никотинамид</li> </ul>	+	+	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Магния сульфат</li> </ul>	+	+	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• HEPES</li> </ul>	+		
<ul style="list-style-type: none"> <li style="width: 50%;">• Магния хлорид</li> <li style="width: 50%;">• Цистеин</li> <li style="width: 50%;">• Натрия лактат</li> <li style="width: 50%;">• ЭДТА</li> </ul>			+
<ul style="list-style-type: none"> <li>• 2-аминоэтанетиол</li> </ul>		+	

### **Меры предосторожности:**

Не используете среду, если она помутнела, не окрашена в розовый цвет, или в ней обнаруживаются частицы. Все компоненты набора содержат заменитель сывороточного белка, получаемый из крови человека.

**Осторожно:** Работа со всеми производными крови должна проводиться как с потенциально инфекционно-опасными веществами. Тестирование исходного материала для получения данного продукта на наличие антител к ВИЧ и ВГ дало отрицательные результаты. HbsAg, РНК HCV, РНК ВИЧ-1 и HBV при анализе исходного материала также не были обнаружены. Обследование доноров крови проводится каждые 4 месяца, все доноры имеют негативный результат анализа на сифилис. Ни один из существующих методов скрининга не гарантирует, что продукты, полученные из человеческой крови, не содержат инфекционных агентов.

Доноры источника материала были проверены на болезнь Крейтцфельда-Якоба (СJD). Благодаря эффективному обследованию доноров и процессу производства продукции риск передачи вирусной инфекции практически отсутствует. Теоретическая вероятность передачи болезни Крейтцфельда-Якоба также считается крайне низкой. За все время использования продукта не было выявлено ни одного случая передачи вирусной инфекции или болезни Крейтцфельда-Якоба через альбумин.

Стандартные методы предотвращения заражения в результате использования медицинской продукции, произведенной из крови или плазмы человека, включают отбор доноров, обследование донорского материала и пулов плазмы на специфические маркеры инфекции и внедрение эффективных мер для дезактивации/ликвидации вирусов на производстве. Несмотря на эти меры, возможность передачи возбудителей инфекции в результате применения медицинской продукции, произведенной из крови или плазмы человека, не может быть исключена полностью. Это касается также возможности передачи неизвестных или новых вирусов и других патогенов. Случаи передачи вирусов с альбумином, произведенным согласно требованиям Европейской Фармакопеи посредством утвержденных производственных процедур, не описаны.

**Одноразовое использование:** В целях предупреждения контаминации следует работать со средой в стерильных условиях и выливать остатки среды из флакона или пробирки после окончания процедуры.

Среды для ВРТ предназначены только для однократного применения. Результатом повторного использования сред может стать работа с просроченным продуктом и высокий риск бактериальной контаминации материала.

При использовании просроченных или зараженных сред условия *in vitro* могут быть значительно хуже необходимых для нормального оплодотворения и развития эмбрионов, что может привести к нарушению развития эмбрионов, их неспособности к имплантации и, как следствие, безрезультатной попытке ЭКО.

**Внимание:** Продукт содержит антибиотик гентамицин сульфат. Перед применением необходимо удостовериться, что пациент не сенсibilизирован по отношению к данному препарату.

### **Контроль качества:**

Продукт протестирован на эмбриотоксичность на одноклеточных эмбрионах мыши (МЕА), доказано формирование 80% и более бластоцист. Уровень эндотоксина согласно USP критериям не превышает <1 МЕ/мл. Для данного продукта по запросу предоставляется сертификат анализа.

### **Инструкция по применению:**

При проведении трансвагинальной пункции фолликулов ооцит-кумулюсные комплексы собирают в культуральную пробирку, содержащую примерно 2-3мл теплой Среды Квина усовершенствованной с добавлением HEPES (Кат.№ ART-1023/1024), содержащей 2 МЕ/мл гепарина.

### **Подготовка Среды для промывки ооцитов**

Перед получением ооцитов среда для промывки ооцитов должна инкубироваться при температуре 37°C, как минимум, 1 час.

Для каждого пациента готовят по три чашки Петри 35x10 мм, каждая из которых содержит примерно 2,0-2,5мл Среды для промывки ооцитов под слоем минерального масла для клеточных культур (Кат.№ ART-4008). Если для отбора ооцит-кумулясных комплексов используется клеточный фильтр (Falcon, Cell Strainer 352350, 70 мкм нейлон, [www.bd.com/labware](http://www.bd.com/labware)), то для каждого пациента необходимо подготовить пробирку объемом 50мл, заполненную 25-30 мл Среды для промывки ооцитов и выдержать при 37°C. В случае использования CO<sub>2</sub>-инкубатора, во избежание падения pH среды, крышка пробирки со средой для промывки ооцитов должна быть плотно закрыта.

#### **Подготовка Среды для созревания ооцитов**

- В культуральную пробирку наливают 10,0 мл Среды для созревания ооцитов. В среде полностью растворяют 1 ампулу с 75 МЕ фолликулостимулирующего гормона и 1 ампулу с 75 МЕ лютеинизирующего гормона. Это пробирка «А».
- 9,9 мл свежей Среды для созревания ооцитов наливают в другую культуральную пробирку, это пробирка «С»
- 100 мкл раствора FSH и LH из пробирки «А» и добавляют в пробирку «С». Получают раствор «Д».
- Для каждого пациента подготавливают по 3 культуральных чашки с центральной лункой (Organ Tissue Culture Dishes, 60x15 мм). Во внутреннюю лунку каждой чашки наливают по 1 мл раствора «Д», во внешнее пространство чашки – по 2мл раствора «Д». Чашки с центральной лункой накрывают крышкой и помещают в CO<sub>2</sub>-инкубатор.
- Среда для созревания ооцитов должна уравниваться в атмосфере 5%CO<sub>2</sub> в течение минимум двух часов перед получением ооцитов (на практике это делается в течение предыдущего дня).
- Ооцит-кумулясные комплексы без 1-го полярного тела инкубируют в культуральной чашке с центральной лункой (Organ Tissue Culture Dish, Falcon, 60x15 мм), содержащей 1мл Среды для созревания ооцитов с добавлением фолликулостимулирующего гормона в концентрации 75 мМЕ/мл и лютеинизирующего гормона в концентрации 75 мМЕ/мл. Инкубацию проводят при 5% CO<sub>2</sub>, 37°C и высокой влажности или в смеси 90% N<sub>2</sub>, 5% CO<sub>2</sub> 5% O<sub>2</sub> и при 100% влажности. В одной чашке можно культивировать максимум 10 ооцит-кумулясных комплексов.
- Детальные инструкции относительно источников и добавления фолликулостимулирующего гормона и лютеинизирующего гормона к Среде для созревания ооцитов даны в публикации “Руководство по *in vitro* созреванию незрелых человеческих ооцитов” (“Handbook on In Vitro Maturation of Immature Human Oocytes”), R-C Chian, 2006, предоставляемой по запросу. Источниками FSH и LH могут являться: Repronex® от Ferring Inc. (это комбинация FSH и LH), Humegon® от Organon (это комбинация FSH и LH), Follistim® от Organon (это рекомбинантный FSH); Gonal-F® от Serono (это рекомбинантный FSH), и Pregnyl® от Organon (это хорионический гонадотропин человека, который имеет такую же биологическую активность как LH). Другие источники фармацевтически чистых FSH, LH и hCG также приемлемы.

#### **Подготовка спермы**

Сперму получают и подготавливают к оплодотворению в день получения ооцитов, если планируется получение яйцеклеток с 1-м полярным телом. В противном случае, получение и обработку спермы следует производить на следующий день после сбора ооцитов. По возможности, следует использовать для оплодотворения свежий обработанный эякулят.

#### **Очистка ооцитов спустя 24 часа после культивирования**

Ооцит-кумулясные комплексы культивируют в Среде для созревания ооцитов от 24 до 48 часов. Спустя 24 часа нахождения в среде, ооциты денудировать для определения их качества. Удаление клеток кумулюса производят тонкой пипеткой подходящего диаметра после выдерживания ооцит-кумулясных комплексов в течение 1 минуты в Гиалуронидазе 80ЕД/мл в растворе с HEPEs (Кат.№ ART-4007-А). После денудации ооциты с 1 полярным телом оплодотворяют методами ЭКО или ИКСИ. Оставшиеся ооциты с зародышевым пузырьком (стадия GV) или на стадии метафазы I продолжают культивировать еще 24 часа. На этом этапе нет необходимости менять Среду для созревания ооцитов.

Спустя 48 часов после получения ооцитов оставшиеся денудированные ооциты снова оценивают и немедленно оплодотворяют методами ЭКО или ИКСИ все яйцеклетки, имеющие одно полярное тело. Рекомендуется проводить оплодотворение 1PB методом ИКСИ, так как вероятность успешного оплодотворения в этом случае будет выше, чем при использовании ЭКО.

#### **Подготовка Среды для поддержки эмбрионов**

- В культуральные чашки 35x10 мм наливают капли объемом 20 мкл Среды для поддержки эмбрионов и покрывают их слоем минерального масла для клеточных культур (Кат.№ ART-4008). Число чашек для каждого пациента будет зависеть от числа ооцитов с 1PB, полученных в результате пункции и последующего культивирования.
- Среду для поддержки эмбрионов готовят минимум за 2-4 часа перед процедурой ИКСИ, выдерживая её в инкубаторе при 37°C и 5% CO<sub>2</sub> и 95% воздуха с высокой влажностью (или в смеси из трех газов – 90% N<sub>2</sub>, 5% CO<sub>2</sub> 5% O<sub>2</sub> – и 100% влажности).
- После ИКСИ каждый ооцит переносится в индивидуальную 20 мкл каплю Среды для поддержки эмбрионов, чашку со средой помещают в CO<sub>2</sub> инкубатор для культивирования.

#### **Оценка оплодотворения**

Спустя 16-18 часов после проведения ИКСИ, успешность оплодотворения ооцитов оценивается под микроскопом по появлению двух отдельных проядер (2 PN) и двух полярных тел. На этом этапе нет необходимости переносить оплодотворенные ооциты (2 PN эмбрионы) в другую среду (чашку) для продолжения культивирования.

#### **Культивирование эмбрионов**

Оплодотворенные ооциты культивируют в каплях (20 мкл) Среды для поддержки эмбрионов под слоем минерального масла для клеточных культур (Кат.№ ART-4008). Необходимость в течение дополнительных 1-2 дней зависит от количества и качества полученных эмбрионов. Если необходимо культивировать до стадии бластоцисты, дробящиеся эмбрионы переносят в новую каплю (20 мкл) Среды для поддержки эмбрионов в культуральной чашке под слоем минерального масла для клеточных культур (кат. номер ART-4008) через 2 дня после процедуры ИКСИ.

#### **Стабильность и условия хранения:**

- Закрытые упаковки среды хранить при температуре от 2 до 8 °C.
- Не замораживать.
- Не нагревать выше 39°C.
- Отберите необходимое количество продукта в стерильных условиях.
- Никогда не выливайте отобранную среду обратно во флакон.
- Продукт сохраняет стабильность до истечения срока годности, указанного на упаковке.
- Не используйте продукт, если он стал бесцветным, мутным или имеет признаки микробиологической контаминации.

**SAGE In Vitro Fertilization™** производит полный спектр продуктов для специалистов в области репродуктивной медицины. За последней версией каталога, а также за любой профессиональной информацией обращайтесь, пожалуйста, к представителю компании.

Телефон службы поддержки: 8 (812) 318-02-90

**Значение символов:**

Кат.№



Номер партии



Использовать до (год, месяц, день)



Не использовать повторно



Температура хранения



Стерилизовано мембранной фильтрацией  
(SAL 10<sup>-3</sup>)



Aseptic Technique Sterilization  
Membrane Filtered (SAL 10<sup>-3</sup>)

**Внимание!**

Обратитесь к инструкции по использованию



Продукт соответствует требованиям Medical  
Device Directive



Product conforms to the Medical Device  
Directive 93/42/EEC

Производитель



**Представительство в России:**

ООО «ОРИДЖИО»  
196158, Санкт-Петербург,  
Пулковское шоссе 40/4 литер А  
БЦ «Технополис»  
Тел. 8 (812) 318-02-90  
[Info-ru@origio.com](mailto:Info-ru@origio.com)  
[www.origio.ru](http://www.origio.ru)



SAGE In Vitro Fertilization, Inc.  
a CooperSurgical Company  
95 Corporate Drive  
Trumbull, CT 06611 USA



SAGE In Vitro Fertilization  
1979 East Locust Street  
Pasadena, CA 91107 USA