

Набор для витрификации (разморозка)

Предназначено исключительно для проведения лабораторных процедур.
Пользователь обязан ограничить использование сред в других целях.

Описание продукта	Кат.№	Фасовка
Набор для витрификации (разморозка)	ART-8030	1x2мл;1x4мл;1x6мл

Назначение:

Набор предназначен для размораживания blastocyst человека, витрифицированных с помощью Набора для витрификации (заморозка) (Кат.№№ ART-8025; ART-8025-HSV, ART-8025-HSV-20)

Состав набора:

- | | | |
|--|------------------|---------|
| • Раствор для разморозки, содержащий 1М сахарозы | Кат.№ ART-8030-A | 1x 4мл |
| • Раствор для разморозки, содержащий 0,5М сахарозы | Кат.№ ART-8030-B | 1x 2мл |
| • Раствор MOPS | Кат.№ ART-8030-C | 1 x 6мл |

Описание продукта:

Раствор для разморозки, содержащий 0,1М сахарозу (Кат.№ ART-8030-A) представляет собой модифицированную среду HTF с добавлением буфера MOPS, заменимых и незаменимых аминокислот, 0,01г/л гентамицин сульфата, 1,0М сахарозы и 12мг/мл альбумина человека.

Раствор для разморозки, содержащего 0,5М сахарозу (Кат.№ ART-8030-B) представляет собой модифицированную среду HTF с добавлением буфера MOPS, заменимых и незаменимых аминокислот, 0,01г/л гентамицин сульфата, 0,5М сахарозы и 12мг/мл альбумина человека.

Раствор MOPS (Кат.№ ART-8030-C) представляет собой модифицированную среду HTF с добавлением буфера MOPS, заменимых и незаменимых аминокислот, гентамицин сульфата (0,01г/л) и 12мг/мл альбумина человека.

Меры предосторожности:

Внимание: Влияние витрификации blastocyst на здоровье рождающихся в результате применения данной процедуры детей в долгосрочной перспективе не изучено.

Осторожно: Безопасность и эффективность витрификации эмбрионов человека, не достигших стадии blastocyst, полностью не изучены. На данный момент существуют данные о рождении детей после витрификации дробящихся эмбрионов на 3 день развития (Desai et al., 2007), а также данные о клинических беременностях после витрификации зигот (Selman, El-Danasouri, 2002).

Внимание: Эмбриолог, приступающий к витрификации и разморозке blastocyst, должен прочесть и понять инструкцию по применению, предостережения и меры предосторожности и отработать методику использования наборов для замораживания и разморозки.

Используйте официально зарегистрированный носитель для витрификации, предназначенный для витрификации blastocyst.

- Набор включает достаточное количество сред для проведения только одной процедуры.
- Не используйте среду, если она помутнела, не окрашена в розовый цвет, или в ней обнаруживаются частицы.
- Во избежание контаминации, используйте среду в стерильных условиях и сливайте неиспользованный остаток среды из флакона.
- Исследования показывают, что продукт в нераспечатанном флаконе сохраняет стабильность до истечения срока годности, указанного на упаковке.
- Все компоненты набора содержат альбумин, 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 (CJD). 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 заражённых 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:

Растворы, входящие в состав данного набора, стерилизованы фильтрацией и произведены в аспетических условиях согласно стандартам cGMP, обеспечивающим стерильность на уровне SAL 10⁻³.

Каждый лот продукции проходит тестирование следующими методами:

- Определение уровня эндотоксина методом LAL. Уровень эндотоксина согласно USP критериям не превышает <1 МЕ/мл.
- Оценка эмбриотоксичности с помощью исследования на 1-клеточных эмбрионах мыши (MEA, Mouse Embryo Assay). Показано формирование 80% и более бластоцист.
- Определение уровня стерильности USP Sterility Test <71>
- Результаты всех тестов для каждого лота продукции отображаются в соответствующем сертификате анализа, предоставляемом по запросу.

Необходимые материалы, не входящие в состав набора

- Стерильные чашки Петри (50x9мм, Falcon 351006 или эквивалент) или 4-луночные планшеты (лунки объёмом 1мл, Nunc 176740 или эквивалент)
- Перчатки
- Пипетки для переноса материала - стеклянные пипетки или пластиковые капилляры, кончик которых имеет внутренний диаметр приблизительно 200мкм
- Пинцеты

- Ножницы или скальпель
- Таймер или секундомер
- Криованна или контейнер с крышкой для жидкого азота объёмом 1-2литра
- Жидкий азот (в объёме, достаточном для покрытия криопробирки или гоблета, содержащего витрифицированные бластоцисты)
- Культуральная среда в культуральной чашке, подготовленная и уравновешенная перед началом процедуры размораживания

Инструкция по применению:

Для проведения одной процедуры размораживания бластоцист (за один раз можно размораживать максимум две бластоцисты) необходимо следующее количество сред:

- | | | |
|--|-----------|-----------|
| • Раствор для разморозки, содержащий 1M сахарозы | (1M WS) | 20мкл-1мл |
| • Раствор для разморозки, содержащий 0,5M сахарозы | (0,5M WS) | 40мкл-1мл |
| • Раствор MOPS | (MS) | 60мкл-2мл |

Методика размораживания и отмывки бластоцист

Процедура размораживания проводится при температуре 35-37°C. Во время проведения процедуры используйте нагреваемое стекло микроскопа. Воздействие света на бластоцисты во время инкубации в растворах для размораживания необходимо свести к минимуму. Перед использованием нагрейте растворы до 35-37°C.

А. Процедура с использованием микро-капель растворов

1. Наполните криованну жидким азотом до уровня, обеспечивающего полное погружение закреплённой на держателе криопробирки/гоблета с носителем для витрификации и поставьте её рядом с криохранилищем, в котором находится подлежащий разморозке витрифицированный материал.
Достаньте холдеры с гоблетами/криопробирками, содержащими носитель для витрификации с замороженным материалом и мгновенно перенесите их в криованну таким образом, чтобы носитель для витрификации постоянно находился под слоем жидкого азота.
2. Следуйте инструкции производителя выбранного носителя для витрификации, на котором заморожен материал.
3. Поставьте криованну рядом с микроскопом – это обеспечит возможность действовать быстро.
4. Напишите необходимую информацию на чашке Петри или на крышке чашки.
5. Хорошо перемешайте содержимое флаконов с растворами для размораживания, аккуратно перевернув их несколько раз.
6. Нанесите на дно культуральной чашки/крышки в стерильных условиях одну 20мкл каплю Раствора для разморозки, содержащего 1M сахарозы (1M WS) и две 20мкл капли Раствора для разморозки, содержащего 0,5M сахарозы (0,5M WS) (см. Рис. 1).
7. Работая пинцетом, найдите нужный носитель для витрификации, зафиксированный на держателе в криованне. Можно размораживать только один носитель для витрификации одновременно.
8. Осторожно достаньте носитель для витрификации из гоблета/криопробирки. При этом та часть носителя для витрификации, в которой находится замороженный материал, должна всё время находиться в жидком азоте.
9. Следуя инструкции производителя к используемому носителю для витрификации, немедленно (в течение 2сек) после снятия с носителя защитного чехла погрузите носитель для витрификации в каплю Раствора для разморозки, содержащего 1M сахарозы (1M WS). Среда смывает бластоцисты с носителя, и они перейдут в каплю среды. Оставьте бластоцисты в этом растворе на 1 минуту. Бластоцисты сожмутся и всплывут к поверхности капли.

Внимание: После каждого переноса бластоцист из одной среды в другую, выпустите из пипетки остаток среды и наберите небольшое количество следующего раствора перед переносом материала в следующую каплю. Избегайте образования пузырей.

10. Наберите в пипетку небольшое количество Раствора для разморозки, содержащего 0,5M сахарозы (0,5M WS) и перенесите бластоцисты из 1M WS на дно первой капли 0,5M WS в минимальном объёме среды на 2 минуты.
11. Затем перенесите бластоцисты на дно второй капли 0,5M WS на 2 минуты. Внимание: В растворе 0,5M WS бластоцисты останутся коллапсированными.
12. В это время налейте три 20мкл капли Раствора MOPS (MS: MS1, MS2,MS3), как показано на Рис.1.
13. Перенесите бластоцисты на дно первой капли MS (MS1) на 3 минуты.
14. Перенесите бластоцисты на поверхность второй капли MS (MS2) на 3 минуты.
15. Перенесите бластоцисты на поверхность третьей капли MS (MS3) на 3 минуты.
16. Наконец, перенесите бластоцисты в предварительно подготовленную и уравновешенную чашку подходящей культуральной среды и инкубируйте в CO₂-инкубаторе при 37°C в течение 3-4 часов перед переносом или другими манипуляциями.
17. Если требуется разморозить большее количество бластоцист, повторите этапы 6-16, используя свежие растворы для размораживания.

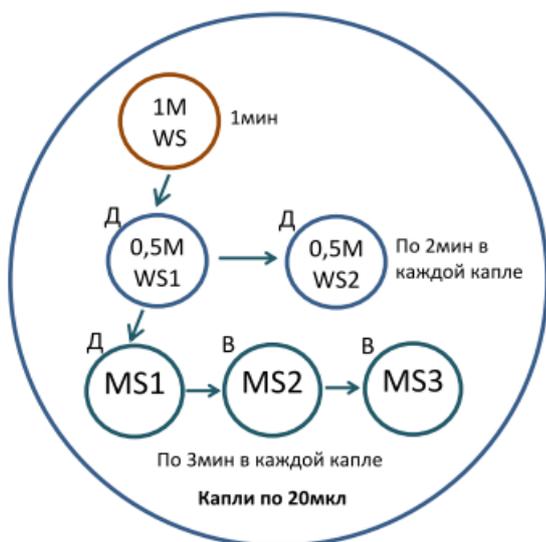


Рис.1

Обозначения:

1M WS – Раствор для разморозки, содержащий 1M сахарозы

0,5M WS – Раствор для разморозки, содержащий 0,5M сахарозы

MS - Раствор MOPS

→ - Перенесите в следующую каплю

В – Перенесите на поверхность капли

Д - Перенесите на дно капли

Б. Процедура размораживания с использованием больших объёмов растворов в 4-луночной планшете

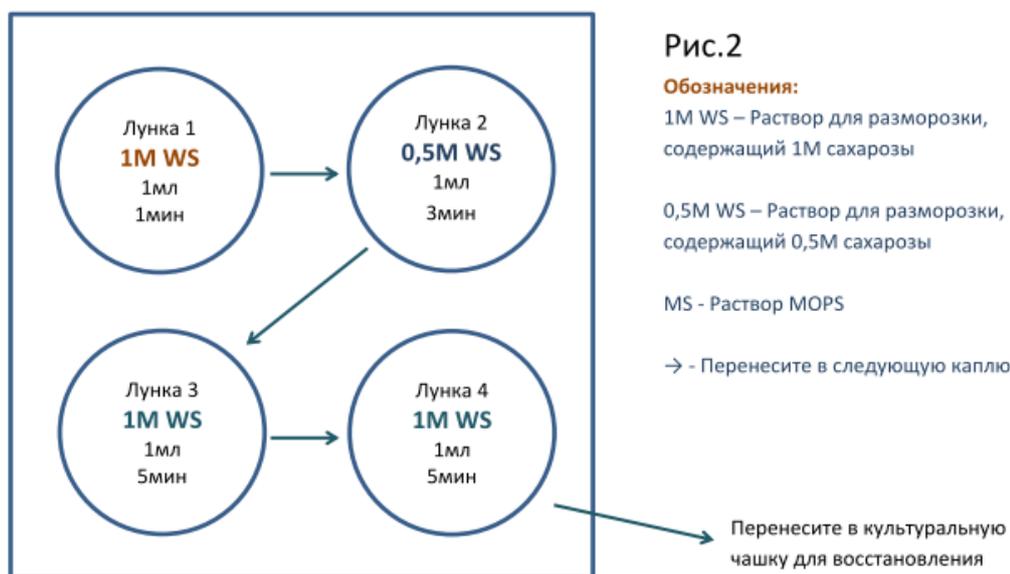
1. Наполните криованну жидким азотом до уровня, обеспечивающего полное погружение закреплённой на держателе криопробирки/гоблета с носителем для витрификации и поставьте её рядом с криохранилищем, в котором находится подлежащий разморозке витрифицированный материал.
2. Достаньте холдеры с гоблетами/криопробирками, содержащими носитель для витрификации с замороженным материалом и мгновенно перенесите их в криованну таким образом, чтобы носитель для витрификации постоянно находился под слоем жидкого азота.
3. Следуйте инструкции производителя выбранного носителя для витрификации, на котором заморожен материал.
4. Поставьте криованну рядом с микроскопом – это обеспечит возможность действовать быстро.
5. Напишите необходимую информацию на стерильном 4х-луночном планшете.
6. Хорошо перемешайте содержимое флаконов с растворами для размораживания, аккуратно перевернув их несколько раз.
7. В стерильных условиях налейте в первую лунку планшета 1мл Раствора для разморозки, содержащего 1M сахарозы (1M WS). Во вторую лунку планшета налейте 1мл Раствора для разморозки, содержащего 0,5M

сахарозы (0,5M WS). В третью и четвёртую лунки налейте по 1 мл Раствора MOPS (MS), как показано на Рис. 2.

8. Работая пинцетом, найдите нужный носитель для витрификации, зафиксированный на держателе в криованне. Можно размораживать только один носитель для витрификации одновременно.
9. Осторожно достаньте носитель для витрификации из гоблета/криопробирки. При этом та часть носителя для витрификации, в которой находится замороженный материал, должна всё время находиться в жидком азоте.
10. Следуя инструкции производителя к используемому носителю для витрификации, немедленно (в течение 2сек) после снятия с носителя защитного чехла погрузите носитель для витрификации в первую лунку планшета, заполненную 1мл раствора 1M WS. Раствор смывает бластоциты с носителя, и они перейдут в лунку со средой. Оставьте бластоциты в этом растворе на 1 минуту. Бластоциты сожмутся и всплывут к поверхности среды.

Внимание: После каждого переноса бластоцист из одной среды в другую, выпустите из пипетки остаток среды и наберите небольшое количество следующего раствора перед переносом материала в следующую каплю. Избегайте образования пузырей.

11. Наберите в пипетку небольшое количество 0,5M WS и перенесите бластоциты в минимальном объёме среды из первой лунки планшета во вторую лунку, заполненную 0,5M WS на 3 минуты. Внимание: в растворе 0,5M WS бластоциты останутся коллапсированными.
12. Перенесите бластоциты на поверхность среды в третью лунку, заполненной 1мл Раствора MOPS (MS), на 5 минут.
13. Перенесите бластоциты на поверхность среды в четвёртую лунку, заполненную 1мл Раствора MOPS (MS), на 5 минут.
14. Наконец, перенесите бластоциты в предварительно подготовленную и уравновешенную чашку подходящей культуральной среды и инкубируйте в CO₂-инкубаторе при 37°C в течение 3-4 часов перед переносом или другими манипуляциями.
15. Если требуется разморозить большее количество бластоцист, повторите этапы 6-16, используя свежие растворы для размораживания.



Стабильность и условия хранения:

- Закрытые упаковки среды хранить при температуре от 2 до 8 °C.
- Перед использованием нагреть до 35-37°C.
- Не замораживать.
- Не нагревать выше 39°C.

- Отбирайте необходимое количество продукта в стерильных условиях.
- Запрещается выливать 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

Литература:

1. Liebermann J, Tucker MJ. 2006 Comparison of vitrification and conventional cryopreservation of day 5 and day 6 blastocysts during clinical application. *FertilSteril* 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, Ieda S, et al. 2005. Comparison of open and closed methods for Well 1ES 1 mL Well 2 VS 1 mL 5-15 min Load carrier device within 90-110 sec 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.

Значение символов:

Кат.№



Номер партии



Использовать до (год, месяц, день)



Не использовать повторно



Температура хранения



Стерилизовано мембранной фильтрацией
(SAL 10⁻³)



Aseptic Technique Sterilization
Membrane Filtered (SAL 10⁻³)

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
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