



## Istruzioni per l'uso di global<sup>®</sup> Blastocyst Fast Freeze<sup>®</sup> Thawing Kit

(Numeri di catalogo: GFT5-055)

---

### PRECAUZIONI E AVVERTENZE

---

1. **Attenzione:** la legge federale degli Stati Uniti limita la vendita di questo dispositivo da parte o su prescrizione di un medico (o di un professionista abilitato).
2. **Attenzione:** l'utente deve leggere e comprendere le Istruzioni per l'uso, le precauzioni e le avvertenze ed essere formato nella corretta procedura prima di utilizzare global<sup>®</sup> Blastocyst Fast Freeze<sup>®</sup> Thawing Kit per lo scongelamento e il recupero di blastocisti umane che sono state sottoposte a crioconservazione utilizzando global<sup>®</sup> Blastocyst Fast Freeze<sup>®</sup> Kit.
3. **Avvertenza:** la sicurezza a lungo termine della crioconservazione di blastocisti sui bambini nati da questa procedura non è nota.
4. **Avvertenza:** questo kit **non deve essere utilizzato** per la reidratazione di ovociti umani o di embrioni umani che non hanno ancora raggiunto la fase di sviluppo di blastocisti.
5. Non utilizzare per l'iniezione.
6. Non utilizzare il prodotto se:
  - la confezione del prodotto appare danneggiata o se la chiusura è rotta
  - la data di scadenza è già trascorsa
  - il prodotto diventa scolorito, torbido o mostra segni di particolato
7. Questo prodotto contiene albumina sierica umana, un derivato del sangue umano. L'albumina sierica umana utilizzata nella preparazione di questo prodotto è stata riscaldata a una temperatura di 60 °C per dieci ore.

**Precauzioni:** tutti i prodotti ematici devono essere trattati come potenzialmente infettivi. Il materiale di origine dal quale questo prodotto è stato derivato è risultato negativo quando sottoposto a test per gli anticorpi contro HIV, HBc, HCV e HTLV I/II e non reattivo per HbsAg, HCV RNA, HIV-1 RNA e sifilide. Nessun metodo di test noto può offrire garanzie che i prodotti derivati da sangue umano non trasmetteranno agenti infettivi.
8. global<sup>®</sup> Blastocyst Fast Freeze<sup>®</sup> Thawing Kit contiene l'antibiotico gentamicina solfato. È necessario adottare le dovute precauzioni per accertarsi che il paziente non sia intollerante a questo antibiotico.
9. Per evitare problemi con la contaminazione, utilizzare tecniche asettiche.
10. global<sup>®</sup> Blastocyst Fast Freeze<sup>®</sup> Thawing Kit è un prodotto **esclusivamente monouso** (reidratazione di blastocisti di un paziente in un giorno). Per l'uso con blastocisti umane che sono state sottoposte a crioconservazione utilizzando global<sup>®</sup> Blastocyst Fast Freeze<sup>®</sup> Kit. Smaltire il prodotto inutilizzato dopo l'apertura.

---

### INFORMAZIONI GENERALI

---

#### Indicazioni per l'uso

Reidratazione di blastocisti che sono state sottoposte a crioconservazione utilizzando global<sup>®</sup> Blastocyst Fast Freeze<sup>®</sup> Kit.

#### Conservazione e durata

Conservare a una temperatura di 2-8 °C lontano dalla luce. Un (1) anno dalla data di produzione.


**Composizione: componenti di base**

Cloruro di sodio	Cloruro di potassio	Cloruro di calcio	Fosfato di potassio	Solfato di magnesio
Bicarbonato di sodio	Glucosio	Lattato di sodio	Piruvato di sodio	Glicina
L-alanina	L-arginina HCl	L-asparagina	Acido L-aspartico	L-cistina
Acido L-glutammico	Glicil-glutammina	L-istidina	L-isoleucina	L-leucina
L-lisina HCl	L-metionina	L-fenilalanina	L-prolina	L-serina
L-treonina	L-triptofano	L-tirosina	L-valina	EDTA
Rosso fenolo	HEPES	Albumina sierica umana* (10 mg/ml)		Gentamicina solfato* (10 µg/ml)

\*da materiale di origine di livello terapeutico

Le soluzioni di scongelamento 1, 2, 3, 4 e 5 di global® Blastocyst Fast Freeze® contengono concentrazioni decrescenti di saccarosio  
insieme ai componenti di base.

**SPECIFICHE DEL CONTROLLO QUALITÀ**

Saggio (eseguito per ciascun lotto)	Specifica
<b>Test fisico-chimici</b>	
pH (Soluzione di scongelamento 1)	7,1-7,5
pH (Soluzione di scongelamento 2)	7,1-7,5
pH (Soluzione di scongelamento 3)	7,1-7,5
pH (Soluzione di scongelamento 4)	7,1-7,5
pH (Soluzione di scongelamento 5)	7,1-7,5
Osmolalità (Soluzione di scongelamento 1)	1100-1325 mOsM
Osmolalità (Soluzione di scongelamento 2)	650-755 mOsM
Osmolalità (Soluzione di scongelamento 3)	400-525 mOsM
Osmolalità (Soluzione di scongelamento 4)	365-405 mOsM
Osmolalità (Soluzione di scongelamento 5)	270-300 mOsM
<b>Test biologici</b>	
Endotossina (LAL) (Soluzione di scongelamento 1)	≤ 1,0 EU/ml
Endotossina (LAL) (Soluzione di scongelamento 2)	≤ 1,0 EU/ml
Endotossina (LAL) (Soluzione di scongelamento 3)	≤ 1,0 EU/ml
Endotossina (LAL) (Soluzione di scongelamento 4)	≤ 1,0 EU/ml
Endotossina (LAL) (Soluzione di scongelamento 5)	≤ 1,0 EU/ml
Test di sterilità (screening batterico e fungino, SAL 10 <sup>-3</sup> )	SUPERATO
<b>Saggi biologici</b>	
Saggio su embrione murino (% di blastocisti ri-espansive dopo 24 ore di	≥ 80%
<b>Piastre Universal GPS®</b>	
Endotossina (LAL)	< 20 EU/dispositivo
Saggio su embrione murino monocellulare (% di blastocisti espansive	≥ 80%

**ISTRUZIONI PER L'USO**

1. Ventiquattro ore prima dello scongelamento delle blastocisti, preparare 2 piastre di coltura etichettate per ciascun paziente (1 piastra di risciacquo e 1 piastra di coltura). Le piastre devono contenere micro-goccioline di circa 20-50 µl di mezzo di coltura per blastocisti appropriato ricoperto con olio minerale. Le piastre devono essere equilibrate durante la notte in un incubatore a CO<sub>2</sub> a 37 °C.










2. La procedura di scongelamento deve essere eseguita a temperatura ambiente (20-25 °C). Portare l'olio minerale e le provette delle soluzioni di scongelamento 1, 2, 3, 4 e 5 di global® Blastocyst Fast Freeze® (T1, T2, T3, T4 e T5) a temperatura ambiente prima dell'uso. Miscelare delicatamente tutte le provette.
3. Riempire il serbatoio per azoto liquido con azoto liquido. Trasferire i goblet o le crioprovette con le blastocisti da scongelare dal contenitore di conservazione con azoto liquido al serbatoio per azoto liquido e posizionarlo vicino al microscopio e al bagno d'acqua a 30 °C.
4. Per ciascuna blastocisti da scongelare, etichettare 5 dei pozzetti esterni più piccoli di una (1) piastra Universal GPS® con T1, T2, T3, T4 e T5. Etichettare il coperchio della piastra con T1R. Etichettare i due pozzetti esterni più grandi della piastra con T1X; questi saranno utilizzati per fornire T1 extra per recuperare la blastocisti dalla paillette di congelamento, se necessario.
5. Pipettare 400 µl di T1 nel coperchio della piastra (T1R) e 150 µl di T1 in ciascuno dei pozzetti interni più grandi della piastra (T1X).
6. Pipettare 100 µl di gocce di T1, T2, T3, T4 e T5 ciascuna nei pozzetti appropriati della piastra e ricoprirli con olio minerale.
7. Rimuovere la paillette contenente la blastocisti dall'azoto liquido e farla scongelare all'aria per 5 secondi e quindi in un bagno d'acqua a 30 °C per 10 secondi (tappo di cotone verso l'alto). Rimuovere la condensa dalla paillette.
8. Posizionare il coperchio della piastra sotto il tavolino del microscopio e, utilizzando le forbici, tagliare la paillette sopra la sigillatura a caldo. Quindi tagliare l'estremità opposta proprio sotto l'etichetta d'identificazione e attraverso il centro del tappo di cotone.
9. Mettere a fuoco il microscopio sull'estremità della paillette e utilizzare un mandrino per espellere il contenuto della paillette nella goccia da 400 µl di T1 nel coperchio (T1R).
10. Localizzare la blastocisti nella goccia T1R e impostare un timer per 3 minuti.  
**Nota:** se non è possibile localizzare la blastocisti nella goccia T1R, sciacquare la paillette con T1 dai pozzetti T1X della piastra e ripetere l'operazione finché non viene individuata la blastocisti.
11. Agitare delicatamente il coperchio della piastra sulla superficie della cappa a flusso laminare per 30 secondi in modo da diluire i crioprotettori e consentire alla blastocisti di depositarsi sul fondo della goccia.
12. Trasferire la blastocisti su T1 e mantenerla nel pozzetto T1 finché non sono trascorsi i 3 minuti.
13. Caricare la pipetta di trasferimento con la soluzione T2 e trasferire la blastocisti con un volume minimo di T1 nel pozzetto T2. Mantenere la blastocisti in T2 per 5 minuti.
14. Caricare la pipetta di trasferimento con la soluzione T3 e trasferire la blastocisti con un volume minimo di T2 nel pozzetto T3. Mantenere la blastocisti in T3 per 5 minuti.
15. Caricare la pipetta di trasferimento con la soluzione T4 e trasferire la blastocisti con un volume minimo di T3 nel pozzetto T4. Mantenere la blastocisti in T4 per 5 minuti.
16. Caricare la pipetta di trasferimento con la soluzione T5 e trasferire la blastocisti con un volume minimo di T4 nel pozzetto T5. Spostare la piastra di reidratazione su una superficie calda (a 37 °C) e mantenere la blastocisti in T5 per 5 minuti.
17. Sciacquare la blastocisti nei mezzi di coltura diverse volte prima di posizionarli nella piastra di coltura pre-equilibrata. Riportare la piastra in un incubatore a CO<sub>2</sub> a 37 °C.

## Bigliografia

- Stachecki JJ, Cohen J (2008) S3Vitrification System: A novel approach to blastocyst freezing. *J. Clin. Embryol.* **11**, 5-14.  
Stachecki JJ, Garrisi J, Sabino S, Caetano JP, Wiemer KE, Cohen J (2008) A new safe, simple and successful vitrification method for bovine and human blastocysts. *Reprod Biomed Online* **17**, 360-7.



## SIMBOLI

<b>STERILE A</b>	<b>RX Only</b>	<b>REF</b>	<b>LOT</b>		
Sterilizzato utilizzando tecniche di trattamento aseptiche	Solo su prescrizione	Numero di catalogo	Codice di lotto	Consultare le Istruzioni per l'uso	Produttore
		<b>EC REP</b>			
Tenere lontano dalla luce solare	Limite di temperatura	Rappresentante autorizzato nella Comunità europea	Data di scadenza	Non riutilizzare	Codice a barre matrice di dati GS1