

Instructions for the Use of **global®**

(Catalogue Numbers: LGGG-020, LGGG-050, LGGG-100)

Let the Embryos Choose® "Uninterrupted Culture Medium®"

PRECAUTIONS AND WARNINGS

- Certification: 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®** for human embryo culture or transfer.
- 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
- global®** 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.
- Discard unused medium within 7 days of opening. Do not use after expiry date.

GENERAL INFORMATION

Indications for Use
Culture of human embryos from zygote to blastocyst, embryo transfer.

Storage and Shelf Life

Store at 2-8°C and protected from light. Ten (10) weeks from the date of manufacture.

Composition

A bicarbonate-buffered medium replete with glucose, lactate, pyruvate and all 20 amino acids is optimal to support the growth and development of human embryos in vitro.

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

*from therapeutic-grade source material

QUALITY CONTROL SPECIFICATIONS

Assay (performed for each batch)	Specification
Physicochemical Tests	
pH (with 5% CO ₂)	7.2-7.4
Osmolality	260-270 mOsm
Biological Tests	
Endotoxin (LAL)	≤ 0.5 EU/ml
Sterility Test (bacterial and fungal screen, SAL 10 ⁻³)	PASS
Biological Assays	
1-cell Mouse Embryo Assay (% expanded blastocysts at 96 h of culture)	≥ 80%

Special Note on the CO₂ Concentration in the Incubator: In most cases, a 5-7% concentration of CO₂ in the incubator will produce a pH of 7.2 to 7.4 in **global®**. However, the exact concentration of CO₂ required to produce the optimum pH of approximately 7.30 (7.27-7.33) depends on several factors, including the physical characteristics of incubator and the altitude. Consequently, we strongly recommend that each laboratory determine and use the concentration of CO₂ that is required to produce a pH of 7.30 in **global®**.

INSTRUCTIONS FOR USE

The procedures described below have been found to be effective for the preparation of **global®** for culture of human embryos from zygote to blastocyst, and embryo transfer. Every laboratory must define and optimize its own procedures.

After each time the original bottle is opened recap the bottle tightly and store at 2-8°C, protected from light.

Twenty-four (24) hours prior to the use of **global®**, supplement the medium with either Human Serum Albumin (HSA) or LifeGlobal® Protein Supplement to achieve desired (% v/v) of protein supplementation.

- Using a sterile pipette or tip, dispense 25-100 µl droplets or in larger volumes (0.5-1.0 ml) of **global®** supplemented with protein. Cover droplets with appropriate oil.
- Before introducing the embryos, place the culture dishes in the incubator for a minimum of 8 hours to ensure CO₂ and temperature equilibration.

Label each dish with patient information.

- On Day 1, place the zygotes into the equilibrated **global®**. Culture the embryos for 48 h (Day 3, 4-8 cell stage).
- For further culture to blastocyst stage, either a) transfer the embryos to fresh medium under fresh cil and return to the incubator or b) maintain the embryos in the same medium (See Reed et al., 2009; 2010). Note that such uninterrupted culture requires special attention to air quality.

- For transfer on Day 3 (cleavage stage) or Day 5/6 (blastocyst stage) follow general laboratory practice, and transfer to the uterus in 20-30 µl of equilibrated **global®** supplemented with protein.

References
• Reed ML, Hamic A, Thompson DJ and Caperton CL, *Fertil Steril* 92, 1783-6, 2009
• Reed ML, Hamic A, Thompson DJ and Caperton CL, *J. Clin. Embryol.* 13, 33-41, 2010

SYMBOLS

STERILE A	RX Only	REF	LOT	■	■	■
Sterile Usin Asepti Processing Techniques	By Prescription Only	Catalogue Number	Batch Code	Consult Instructions For Use	Manufacturer	Keep Away From Sunlight
2°C	EC REP					
Temperature Limitation	Authorized Representative in the European Community	Use By	GS1 DataMatrix Barcode	Do Not Resterilize	European Conformance (notified body)	Do Not Use If Package is Damaged

Mode d'emploi de **global®**

(Références catalogue: LGGG-020, LGGG-050, LGGG-100)

Let the Embryos Choose® "Uninterrupted Culture Medium®"

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®** pour la culture ou le transfert d'embryons humains.
- Ne convient pas pour une injection.
- Ne pas résteriliser.
- Ne pas utiliser ce produit si :
 - l'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
- global®** contient des antibiotiques et un antiseptique. Il convient de prendre les mesures de précaution nécessaires pour s'assurer que la patiente n'est pas sensibilisée à cet antibiotique.
- Utiliser des techniques aseptiques pour éviter tout problème de contamination.
- Éliminer tout milieu de culture non utilisé dans les 7 jours suivant l'ouverture. Ne pas utiliser après la date de péremption.

INFORMATIONS GÉNÉRALES

Indications d'utilisation
Culture d'embryons humains du stade zygote à blastocyste, transfert d'embryons.

Conditions et durée de conservation

À conserver entre 2 et 8°C et à l'abri de la lumière (10) semaines à partir de la date de fabrication.

Composition

Un milieu de culture tamponné au bicarbonate, contenant du glucose, du lactate, du pyruvate et l'ensemble des 20 acides aminés, est idéal pour assurer la croissance et le développement d'embryons humains *in vitro*.

Chlorure de sodium, Pyruvate de sodium, L-arginine, L-threonine, Chlorure de potassium, L-alanine, L-cystéine, L-tryptophane, Chlorure de calcium, L-asparagine, L-histidine, L-tyrosine, Phosphate de potassium, Acide L-aspartique, L-isoleucine, L-valine, Sulfate de magnésium, Acide L-glutamique, L-leucine, Glycyl-L-glutamine, Bicarbonate de sodium, Glycine, L-lysine, EDTA, Glucose, L-proline, L-méthionine, Rouge de phénol, Lactate de sodium, L-serine, L-félinalanine, Sulfate de gentamicine (*10 µg/ml)

*en provenance de matériau de qualité thérapeutique

SPECIFICATIONS DU CONTRÔLE DE QUALITÉ

Test (effectué pour chaque lot)	Spécification
Tests physicochimiques	
pH (avec 5 % de CO ₂)	7,2-7,4
Osmolalité	260-270 mOsm
Tests biologiques	
Endotoxine (LAL)	≤ 0,5 EU/ml
Test de stérilité (dépistage bactérien et fongique, SAL 10 ⁻³)	RÉUSSI
Tests biologiques	
Test sur embryon de souris 1 cellule (% de blastocystes développés après 96 h en culture)	≥ 80%

Remarque particulière concernant la concentration de CO₂ dans l'incubateur: Dans la plupart des cas, une concentration de CO₂ de 5-7 % dans l'incubateur générera un pH de 7,2 à 7,4 dans **global®**. Néanmoins, la concentration exacte de CO₂ nécessaire à l'obtention d'un pH optimal d'environ 7,30 (7,27-7,33) dépend de plusieurs facteurs, dont notamment les caractéristiques physiques de l'incubateur et l'altitude. Par conséquent, nous recommandons vivement à chaque laboratoire de déterminer et d'utiliser la concentration de CO₂ nécessaire à l'obtention d'un pH de 7,30 dans **global®**.

MODE D'EMPLOI

Tous les procédures décrites ci-dessous se sont révélées efficaces pour la préparation de **global®** à des fins de culture d'embryons humains du stade zygote à blastocyste et des fins de transfert d'embryons. Chaque laboratoire doit définir et optimiser ses propres procédures.

Après chaque ouverture du flacon d'origine, celui-ci doit être hermétiquement refermé et conservé entre 2 et 8°C, à l'abri de la lumière.

Vingt-quatre (24) heures avant l'utilisation de **global®**, complétez le support avec de l'albumine de sérum humain (HSA) ou du supplément protéique LifeGlobal® afin d'obtenir le pourcentage souhaité (v / v) de supplémentation protéique

1. À l'aide d'une pipette ou d'un embout stérile, déposer des gouttes de 25-100 µl ou de plus grands volumes (0,5-1,0 ml) de **global®** complété en protéine. Recouvrir les gouttelettes d'une huile appropriée.

2. Avant d'introduire les embryons, placer les bouteilles de culture dans l'incubateur pendant au moins 8 heures afin de permettre l'équilibrage du CO₂ et de la température dans la culture boîte avec les informations de la patiente.

3. Au jour 1, placer les zygotes dans le milieu de culture (voir Reed et al., 2009; 2010). Il faut savoir qu'à cette telle culture interrompu nécessite une attention toute particulière pour la qualité de l'air.

4. Pour le transfert au jour 3 (stade de segmentation) ou au jour 5/6 (stade blastocyste), respectez les pratiques générales du laboratoire et transférer dans l'utérus dans 20-30 µl de **global®** équilibré complété en protéine.

5. Pour transférer au jour 3 (stade de segmentation) ou au jour 5/6 (stade blastocyste), respectez les pratiques générales du laboratoire et transférer dans l'utérus dans 20-30 µl de **global®** équilibré complété en protéine.

6. Pour la culture jusqu'au stade blastocyste:

- a) transférer les embryons au stade de segmentation dans un milieu frais recouvert d'huile fraîche et l'ajouter dans l'incubateur
- soit b) conserver les embryons dans le même milieu de culture (voir Reed et al., 2009; 2010). Il faut savoir qu'à cette telle culture interrompu nécessite une attention toute particulière pour la qualité de l'air.

7. Pour le transfert au jour 3 (stade de segmentation) ou au jour 5/6 (stade blastocyste), respectez les pratiques générales du laboratoire et transférer dans l'utérus dans 20-30 µl de **global®** équilibré complété en protéine.

8. Pour la culture jusqu'au stade blastocyste, respectez les pratiques générales du laboratoire et transférer dans l'utérus dans 20-30 µl de **global®** équilibré complété en protéine.

9. Pour la culture jusqu'au stade blastocyste, respectez les pratiques générales du laboratoire et transférer dans l'utérus dans 20-30 µl de **global®** équilibré complété en protéine.

10. Pour la culture jusqu'au stade blastocyste, respectez les pratiques générales du laboratoire et transférer dans l'utérus dans 20-30 µl de **global®** équilibré complété en protéine.

11. Pour la culture jusqu'au stade blastocyste, respectez les pratiques générales du laboratoire et transférer dans l'utérus dans 20-30 µl de **global®** équilibré complété en protéine.

12. Pour la culture jusqu'au stade blastocyste, respectez les pratiques générales du laboratoire et transférer dans l'utérus dans 20-30 µl de **global®** équilibré complété en protéine.

13. Pour la culture jusqu'au stade blastocyste, respectez les pratiques générales du laboratoire et transférer dans l'utérus dans 20-30 µl de **global®** équilibré complété en protéine.

14. Pour la culture jusqu'au stade blastocyste, respectez les pratiques générales du laboratoire et transférer dans l'utérus dans 20-30 µl de **global®** équilibré complété en protéine.

15. Pour la culture jusqu'au stade blastocyste, respectez les pratiques générales du laboratoire et transférer dans l'utérus dans 20-30 µl de **global®** équilibré complété en protéine.

16. Pour la culture jusqu'au stade blastocyste, respectez les pratiques générales du laboratoire et transférer dans l'utérus dans 20-30 µl de **global®** équilibré complété en protéine.

17. Pour la culture jusqu'au stade blastocyste, respectez les pratiques générales du laboratoire et transférer dans l'utérus dans 20-30 µl de **global®** équilibré complété en protéine.

18. Pour la culture jusqu'au stade blastocyste, respectez les pratiques générales du laboratoire et transférer dans l'utérus dans 20-30 µl de **global®** équilibré complété en protéine.

19. Pour la culture jusqu'au stade blastocyste, respectez les

