



Istruzioni per l'uso di global[®] DMSO Blastocyst Vitrification Kit

(Numeri di catalogo: DMV5-005)

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[®] DMSO Blastocyst Vitrification Kit per la vitrificazione di blastocisti umane.
3. **Avvertenza:** la sicurezza a lungo termine della vitrificazione di blastocisti sui bambini nati da questa procedura non è nota.
4. **Avvertenza:** la sicurezza e l'efficacia della vitrificazione non è stata completamente valutata negli 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[®] DMSO Blastocyst Vitrification 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. Utilizzare un dispositivo di trasporto e conservazione legalmente commercializzato che sia appropriato per le procedure di vitrificazione di blastocisti.
11. Utilizzare un sistema di conservazione chiuso per prevenire il potenziale rischio di contaminazione virale e non utilizzare sistemi di conservazione aperti in cui i campioni vengono a diretto contatto con l'azoto liquido.
12. La velocità di raffreddamento nel dispositivo di trasporto e conservazione deve essere compresa tra 1.800 e 20.000 °C/min. (Camus *et al.*, 2006)
13. global[®] DMSO Blastocyst Vitrification Kit è un prodotto **esclusivamente monouso** (vitrificazione di blastocisti da un paziente in un giorno). Smaltire il prodotto inutilizzato dopo l'apertura.

INFORMAZIONI GENERALI

Indicazioni per l'uso

Per la vitrificazione (congelamento ultra-rapido) e la crioconservazione di blastocisti umane.

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	Gentamicina solfato* (10 µg/ml)		

Soluzione di equilibrizzazione

Dimetilsolfossido (7,5% v/v)
 Glicole etilenico (7,5% v/v)
 Albumina sierica umana* (10 mg/ml)

Soluzione di vitrificazione

Dimetilsolfossido (15% v/v)
 Glicole etilenico (15% v/v)
 Saccarosio (0,5 M)
 Albumina sierica umana* (10 mg/ml)

*da materiale di origine di livello terapeutico

SPECIFICHE DEL CONTROLLO QUALITÀ

Saggio (eseguito per ciascun lotto)	Specifica
Test fisico-chimici	
pH (Soluzione di equilibrizzazione)	7,1-7,5
pH (Soluzione di vitrificazione)	7,1-7,5
Osmolalità (Soluzione di equilibrizzazione)	2600-3500 mOsM
Osmolalità (Soluzione di vitrificazione)	4900-6600 mOsM
Test biologici	
Endotossina (LAL) (Soluzione di equilibrizzazione)	≤ 1,0 EU/ml
Endotossina (LAL) (Soluzione di vitrificazione 2)	≤ 1,0 EU/ml
Test di sterilità (screening batterico e fungino, SAL 10 ⁻³)	SUPERATO
Saggi biologici	
Saggio su embrione murino (% di blastocisti espanse dopo 96 ore di coltura)	≥ 80%
Piastre embryo GPS®	
Endotossina (LAL)	< 20 EU/dispositivo
Saggio su embrione murino monocellulare (% di blastocisti espanse dopo 96 ore di coltura)	≥ 80%

ISTRUZIONI PER L'USO

1. La procedura di vitrificazione e tutte le manipolazioni di blastocisti vengono effettuate a temperatura ambiente (20-27 °C). Portare le soluzioni di equilibrizzazione e di vitrificazione a temperatura ambiente e miscelare delicatamente ciascuna provetta prima dell'uso.
2. Riempire il serbatoio per azoto liquido con azoto liquido a una profondità sufficiente per immergere un goblet su una criocanna e posizionarlo vicino al microscopio.
3. Seguire le istruzioni che accompagnano il dispositivo di trasporto per vitrificazione. Etichettare con le informazioni necessarie.
4. Pipettare in modo asettico 20 µl di Soluzione di equilibrizzazione (ES) in una piastra di Petri.
5. Trasferire le blastocisti (non più di 2) con una quantità minima di mezzo di coltura nella goccia di ES. Consentire alle blastocisti di effettuare l'equilibrizzazione per 5-15 minuti.



6. Mentre le blastocisti stanno effettuando l'equilibratura nell'ES, erogare quattro gocce da 20 µl di Soluzione di vitrificazione (VS) nella piastra di Petri (VS1, VS2, VS3 e VS4). Importante: la quantità di tempo tra il primo posizionamento di blastocisti in VS1 e l'immersione nell'azoto liquido non deve superare i 110 secondi.
7. Aspirare un po' di VS1 nella pipetta di trasferimento, trasferire le blastocisti nella goccia di VS1 e mantenerle per 5 secondi.
8. Trasferire rapidamente le blastocisti da VS1 a VS2 e mantenerle per 5 secondi.
9. Trasferire rapidamente le blastocisti da VS2 a VS3 e mantenerle per 10 secondi.
10. Infine trasferire le blastocisti da VS3 a VS4. Caricare le blastocisti da VS4 nel dispositivo di vitrificazione.
11. Per la procedura di vitrificazione, seguire le istruzioni che accompagnano il dispositivo di trasporto per vitrificazione.



Conservazione in azoto liquido: (tutte queste procedure devono essere eseguite con il campione vitrificato completamente immerso nell'azoto liquido per prevenire il riscaldamento involontario). Trasferire il campione vitrificato in un goblet correttamente etichettato collegato a una criocanna. Trasferire la criocanna in una tank di conservazione di azoto liquido.

Se devono essere vitrificate più blastocisti, ripetere i passaggi 4-11 utilizzando gocce fresche di ES e di VS in una nuova piastra.

Bigliografia

- 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 Fertil* **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.

SIMBOLI

	RX Only				
Sterilizzato utilizzando tecniche di trattamento aseptiche	Solo su prescrizione	Numero di catalogo	Codice di lotto	Consultare le Istruzioni per l'uso	Produttore
					
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