



Istruzioni per l'uso di global[®] Blastocyst Fast Freeze[®] Kit

(Numeri di catalogo: GFV5-005)

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[®] Blastocyst Fast Freeze[®] Kit per la crioconservazione di blastocisti umane.
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 crioconservazione 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[®] Blastocyst Fast Freeze[®] 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 le paillette di congelamento appropriate per le procedure di crioconservazione di blastocisti e seguire le istruzioni del produttore per l'etichettatura, la manipolazione e la sigillatura a caldo delle paillette.
11. global[®] Blastocyst Fast Freeze[®] Kit è un prodotto **esclusivamente monouso** (crioconservazione di blastocisti di un paziente in un giorno). Smaltire il prodotto inutilizzato dopo l'apertura.

INFORMAZIONI GENERALI

Indicazioni per l'uso

Per la crioconservazione di blastocisti.

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* (20 mg/ml)		Gentamicina solfato* (10 µg/ml)

*da materiale di origine di livello terapeutico

Le soluzioni 1, 2 e 3 di global® Blastocyst Fast Freeze® contengono concentrazioni decrescenti di glicerolo e glicole etilenico insieme ai componenti di base.

SPECIFICHE DEL CONTROLLO QUALITÀ

Saggio (eseguito per ciascun lotto)	Specifica
Test fisico-chimici	
pH (Soluzione 1 Fast Freeze®)	7,1-7,5
pH (Soluzione 2 Fast Freeze®)	7,1-7,5
pH (Soluzione 3 Fast Freeze®)	7,1-7,5
Osmolalità (Soluzione 1 Fast Freeze®)	1400-2000 mOsM
Osmolalità (Soluzione 2 Fast Freeze®)	4900-6900 mOsM
Osmolalità (Soluzione 3 Fast Freeze®)	7800-10600 mOsM
Test biologici	
Endotossina (LAL) (Soluzione 1 Fast Freeze®)	≤ 1,0 EU/ml
Endotossina (LAL) (Soluzione 2 Fast Freeze®)	≤ 1,0 EU/ml
Endotossina (LAL) (Soluzione 3 Fast Freeze®)	≤ 1,0 EU/ml
Test di sterilità (screening batterico e fungino, SAL 10 ⁻³)	SUPERATO
Saggi biologici	
Saggio su embrione murino (% di blastocisti ri-espanso dopo 24 ore di coltura)	≥ 80%
Piastre Universal GPS®	
Endotossina (LAL)	< 20 EU/dispositivo
Saggio su embrione murino monocellulare (% di blastocisti espanse dopo 96 ore di coltura)	≥ 80%

ISTRUZIONI PER L'USO

Nota: solo blastocisti complete o espanse di buona qualità con una cavità visibile/ben organizzata e una massa cellulare interna distinta o nella fase di incubazione/già incubate devono essere scelte per la crioconservazione.

1. La procedura di crioconservazione deve essere eseguita a temperatura ambiente (20-25 °C). Portare le provette delle soluzioni 1, 2, 3 di global® Blastocyst Fast Freeze® (F1, F2 e F3) a temperatura ambiente prima dell'uso. Miscelare delicatamente ciascuna provetta prima dell'uso.
2. Etichettare un goblet o una crioprovetta con le informazioni del paziente.
3. Riempire un serbatoio per azoto liquido con azoto liquido e tenere il contenitore vicino all'area di lavoro. Mantenere sempre una quantità sufficiente di azoto liquido nel serbatoio.

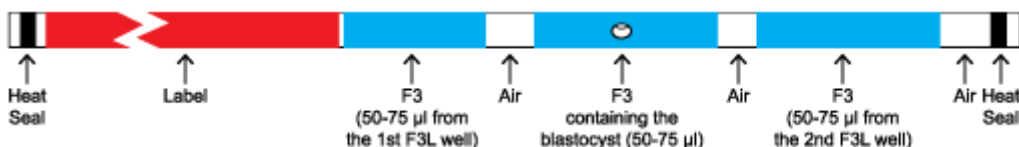


4. Preparare un'etichetta per ciascuna paillette in conformità ai protocolli di laboratorio standard. Si consiglia di caricare solo una blastocisti per ogni paillette.
5. Posizionare l'etichetta all'estremità della paillette sul tappo di cotone. Utilizzare un mandrino per spingere il tappo di cotone in basso oltre l'etichetta finché circa la metà del tappo di cotone non è visibile nella paillette.
6. Per ciascuna blastocisti, etichettare 3 dei pozzetti esterni più piccoli della piastra Universal GPS® con F1, F2 e F3. Etichettare i due pozzetti interni più grandi con F3R (da utilizzare per il risciacquo della paillette di congelamento) e due dei pozzetti esterni più piccoli con F3L (da utilizzare per il caricamento della paillette di congelamento).
7. Pipettare una goccia da 100 µl di F1 nel pozzetto contrassegnato con F1 nella piastra Universal GPS®.
8. Trasferire una blastocisti con un volume minimo di mezzo di coltura dalla piastra di coltura in una goccia di F1 sulla piastra Universal GPS® contrassegnata. Utilizzare una pipetta di trasferimento per spostare delicatamente la blastocisti nella goccia, lontano dal punto di scarico, al fine di diluire il carryover del mezzo di coltura.
9. Mantenere la blastocisti in F1 per 5 minuti.
10. Prima del termine dei 5 minuti, pipettare una goccia da 100 µl di F2 nel pozzetto contrassegnato con F2 nella piastra.
11. Caricare la pipetta con F2 e trasferire la blastocisti dalla goccia F1 alla goccia F2. Mantenere la blastocisti in F2 per 5 minuti.
12. Nel frattempo:
 - a. Pipettare 100 µl di F3 nel pozzetto contrassegnato con F3 e nei due pozzetti contrassegnati con F3L, e 150 µl di F3 in ciascuno dei pozzetti contrassegnati con F3R.
 - b. Preparare la paillette di congelamento collegando una siringa da 1 ml o altro dispositivo di caricamento della paillette all'estremità dell'etichetta della paillette.
 - c. Sciacquare la paillette con 100 µl di F3 presi dai pozzetti F3R della piastra. Espellere il mezzo. Se lo si desidera, la paillette può essere sciacquata di nuovo utilizzando F3 dall'altro pozzetto F3R.
 - d. Caricare la paillette con 50-75 µl di F3 dal primo pozzetto F3L, seguiti da 0,5 cm di aria e quindi da altri 20-25 µl di F3. Mettere da parte la siringa e la paillette mantenendola in posizione orizzontale.
13. Trasferire la blastocisti da F2 nel pozzetto F3. Il tempo totale tra il trasferimento della blastocisti a F3 e l'immersione completa della paillette è di 60-90 secondi.

Caricamento della blastocisti nella paillette e sigillatura a caldo

- a. Utilizzando una siringa pre-caricata, prelevare la blastocisti in circa 50 µl di F3 e aspirare l'aria per produrre una seconda colonna di aria (circa 0,5 cm). Quindi aspirare 50-75 µl di F3 dal secondo pozzetto F3L.
- b. Rimuovere la siringa mantenendo la paillette in posizione orizzontale.
- c. Sigillare entrambe le estremità della paillette con una sigillatrice a caldo (la corretta sigillatura è fondamentale per una corretta crioconservazione, pertanto ottimizzare la temperatura della sigillatrice per ottenere la sigillatura adeguata; non effettuare la sigillatura a caldo sul tappo di cotone). **Figura 1**

Figura 1. Rappresentazione schematica del metodo di caricamento della paillette di congelamento per la crioconservazione di blastocisti utilizzando global® Blastocyst Fast Freeze® Kit.



Nota: non in scala. Vedere il testo per le istruzioni complete.

Raffreddamento e conservazione della paillette












14. Tra 60 e 90 secondi dopo il posizionamento della blastocisti nel pozzetto F3, immergere la paillette nell'azoto liquido (-196 °C) e posizionarla nei goblet raffreddati, che sono immersi nell'azoto liquido e sono stati pre-etichettati con le informazioni del paziente.
15. Ripetere i passaggi 1-14 per le restanti blastocisti.
16. Trasferire la criocanna nella tank di congelamento per la conservazione a lungo termine.

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

	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