



Mode d'emploi de global® Blastocyst Fast Freeze® Kit

(Références catalogue : GFV5-005)

PRÉCAUTIONS ET MISES EN GARDE

1. **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).
2. **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® Blastocyst Fast Freeze® Kit pour la cryoconservation des blastocystes humains.
3. **Mise en garde** : la sécurité à long terme de la cryoconservation des blastocystes sur les enfants nés à l'issue de cette procédure est inconnue.
4. **Mise en garde** : ce kit **n'est pas destiné à être utilisé** pour la cryoconservation des ovocytes humains ni pour les embryons humains n'ayant pas encore atteint le stade de développement du blastocyste.
5. Ne convient pas pour une injection.
6. Ne pas restériliser.
7. 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
8. Ce produit contient de l'albumine sérique humaine, un dérivé du sang humain. L'albumine sérique humaine utilisée dans la préparation de ce produit a été chauffée à 60 °C pendant dix heures.

Attention : Les mesures standard visant à prévenir les infections résultant de l'utilisation de médicaments préparés à partir de sang ou plasma humain comprennent la sélection des donneurs, le dépistage de marqueurs spécifiques d'infections dans les dons individuels et les pools de plasma et l'inclusion d'étapes de fabrication efficaces pour l'inactivation/élimination des virus. En dépit de ces mesures, le risque de transmission d'agents infectieux ne peut être totalement exclu lors d'administrations de médicaments préparés à partir de sang ou plasma humain. Ceci s'applique aussi à des virus inconnus ou émergents ou à d'autres agents pathogènes. Aucun cas de transmission virale n'a été rapporté avec l'albumine fabriquée selon les procédures établies dans le respect des spécifications de la Pharmacopée Européenne. À chaque administration de global® Blastocyst Fast Freeze® Kit chez un patient, il est fortement recommandé de consigner le nom et le numéro de lot du produit afin de pouvoir à tout moment faire le lien entre le patient et le lot du produit.

9. global® Blastocyst Fast Freeze® Kit contient du sulfate de gentamicine, un antibiotique. Il convient de prendre les mesures de précaution nécessaires pour s'assurer que la patiente n'est pas sensibilisée à cet antibiotique.
10. Utiliser des techniques aseptiques pour éviter tout problème de contamination.
11. Utiliser des paillettes de congélation adaptées pour les procédures de cryoconservation de blastocystes et suivre les instructions du fabricant pour l'étiquetage, la manipulation et le scellement thermique des pailles.
12. Le global® Blastocyst Fast Freeze® Kit est destiné à **un usage unique** (la cryoconservation de blastocystes d'une patiente un jour donné). Jeter le produit non utilisé après ouverture.

INFORMATIONS GÉNÉRALES

Indications d'utilisation

Pour la cryoconservation de blastocystes.



Conditions et durée de conservation

À conserver entre 2 et 8 °C et à l'abri de la lumière. Un (1) an à partir de la date de fabrication.

Considération en matière d'élimination

Traiter ou éliminer les déchets conformément à l'ensemble des réglementations locales et nationales en vigueur. Éliminer avec les déchets de laboratoire.

Composition – composants de base

Chlorure de sodium	Chlorure de potassium	de Chlorure de calcium	de Phosphate de potassium	Sulfate de magnésium
Bicarbonate de sodium	Glucose	Lactate de potassium	de Pyruvate de sodium	Glycine
L-alanine	L-arginine HCl	L-asparagine	Acide L-aspartique	L-cystine
Acide L-glutamique	Glycyl-glutamine	L-histidine	L-isoleucine	L-leucine
L-lysine HCl	L-méthionine	L-phénylalanine	L-proline	L-sérine
L-thréonine	L-tryptophane	L-tyrosine	L-valine	EDTA
Rouge de phénol	HEPES	Albumine sérique humaine* (20 mg/ml)		Sulfate de gentamicine* (10 µg/ml)

*en provenance de matériel de qualité thérapeutique

global® Blastocyst Fast Freeze® Solutions 1, 2 et 3 contiennent des concentrations décroissantes de glycérol et d'éthylène glycol ainsi que des composants de base.

SPÉCIFICATIONS DU CONTRÔLE DE QUALITÉ

Test (effectué pour chaque lot)	Spécification
Tests physicochimiques	
pH (Solution Fast Freeze® 1)	7.1-7.5
pH (Solution Fast Freeze® 2)	7.1-7.5
pH (Solution Fast Freeze® 3)	7.1-7.5
Osmolalité (Solution Fast Freeze® 1)	1 400-2 000 mOsM
Osmolalité (Solution Fast Freeze® 2)	4 900-6 900 mOsM
Osmolalité (Solution Fast Freeze® 3)	7 800-10 600 mOsM
Tests biologiques	
Endotoxine (LAL) (Solution Fast Freeze® 1)	≤ 1,0 EU/ml
Endotoxine (LAL) (Solution Fast Freeze® 2)	≤ 1,0 EU/ml
Endotoxine (LAL) (Solution Fast Freeze® 3)	≤ 1,0 EU/ml
Test de stérilité (dépistage bactérien et fongique, SAL 10 ⁻³)	RÉUSSI
Tests biologiques	
Test sur embryon de souris (% de blastocystes redéveloppés après 24 h en culture)	≥ 80%
Boîtes Universal GPS®	
Endotoxine (LAL)	< 20 EU/dispositif
Test sur embryon de souris 1 cellule (% de blastocystes développés après 96 h en culture)	≥ 80%



MODE D'EMPLOI

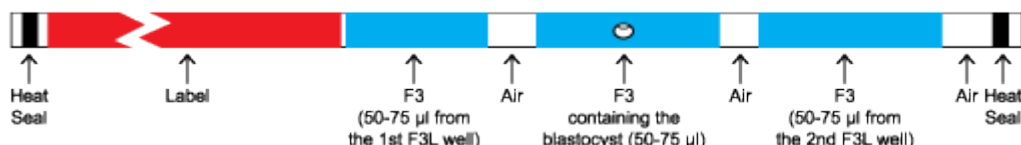
Remarque : Seuls les blastocystes entiers ou développés de bonne qualité, présentant une cavité visible/bien structurée et un ICM distinct ou au stade d'éclosion/éclos doivent être sélectionnés pour la cryoconservation.

1. La procédure de cryoconservation doit être effectuée à température ambiante (20-25 °C). Porter les ampoules de global® Blastocyst Fast Freeze® Solutions 1, 2 et 3 (F1, F2 et F3) à température ambiante avant utilisation. Mélanger doucement chaque ampoule avant utilisation.
2. Étiqueter une coupe ou un tube de cryogénération à l'aide des informations de la patiente.
3. Remplir un réservoir d'azote liquide à l'aide d'azote liquide et conserver le conteneur à proximité de la zone de travail. Toujours maintenir un niveau suffisant d'azote liquide dans le réservoir.
4. Préparer une étiquette pour chaque paillete conformément aux protocoles standard du laboratoire. Il est conseillé de charger un seul blastocyste par paillete.
5. Placer l'étiquette à l'extrémité de la paillete, sur le bouchon en coton. Utiliser un stylet pour pousser le bouchon en coton vers le bas, au-delà de l'étiquette, jusqu'à ce que la moitié du bouchon en coton soit visible dans la paillete.
6. Pour chaque blastocyste, étiqueter 3 des plus petits puits périphériques de la boîte Universal GPS® à l'aide de F1, F2 et F3. Étiqueter le deux plus grands puits centraux à l'aide de F3R (à utiliser pour rincer la paillete de congélation) et deux des plus petits puits périphériques à l'aide de F3L (à utiliser pour charger la paillete de congélation).
7. Pipeter une goutte de 100 µl de F1 dans le puits marqué F1 dans la boîte Universal GPS®.
8. Transférer un blastocyste avec un volume minimal du milieu de culture de la boîte de culture dans la goutte de F1 sur la boîte Universal GPS® étiquetée. Utiliser la pipette de transfert pour déplacer doucement le blastocyste à travers la goutte, en l'éloignant du point de déchargement, afin de diluer tout transfert du milieu de culture.
9. Laisser le blastocyste dans F1 pendant 5 minutes.
10. Avant la fin des 5 minutes, pipeter une goutte de 100 µl de F2 dans le puits marqué F2 dans la boîte.
11. Charger la pipette contenant F2 et transférer le blastocyste de la goutte F1 vers la goutte F2. Laisser le blastocyste dans F2 pendant 5 minutes.
12. Entre-temps :
 - a. Pipeter 100 µl de F3 dans le puits marqué F3 et les deux puits marqués F3L, et 150 µl de F3 dans chacun des puits marqués F3R.
 - b. Préparer la paillete de congélation en insérant une seringue 1 ml ou tout autre dispositif de chargement de paillete dans l'extrémité étiquetée de la paillete.
 - c. Rincer la paillete à l'aide de 100 µl de F3 prélevés dans les puits F3R de la boîte. Expulser le liquide. Si besoin, la paillete peut à nouveau être rincée à l'aide de F3 provenant de l'autre puits F3R.
 - d. Charger la paillete contenant 50-75 µl de F3 provenant du premier puits F3L, suivis de 0,5 cm d'air, puis à nouveau 20-25 µl de F3. Mettre la seringue et la paillete de côté, en les maintenant dans une position horizontale.
13. Transférer le blastocyste de F2 dans le puits F3. La durée totale du transfert du blastocyste vers F3 et l'immersion totale de la paillete est de 60-90 secondes.

Chargement du blastocyste dans la paillete et scellement thermique

- a. À l'aide de la seringue pré-chargée, prélever le blastocyste dans environ 50 µl de F3 et aspirer l'air pour créer la deuxième colonne d'air (environ 0,5 cm). Aspirer ensuite 50-75 µl de F3 dans le deuxième puits F3L.
- b. Retirer la seringue en maintenant la paillete à l'horizontale.
- c. Sceller les deux extrémités de la paillete à l'aide du scelleur thermique approprié, en suivant les instructions du fabricant (un scellement approprié est crucial pour la réussite de la cryoconservation. Il convient donc d'optimiser la température du scelleur pour obtenir le scellement adéquat ; ne pas effectuer de scellement thermique sur le bouchon en coton). **Figure 1**

Figure 1. Représentation schématique de la méthode de chargement de la paillete de congélation pour la cryoconservation de blastocystes à l'aide du global® Blastocyst Fast Freeze® Kit.





Remarque : pas à l'échelle. Voir le texte pour les instructions complètes.














Refroidissement et stockage de la paillette

14. Entre 60 et 90 secondes après l'insertion du blastocyste dans le puits F3, plonger la paillette dans l'azote liquide (-196 °C) et la placer dans les coupes réfrigérées qui sont immergées dans l'azote liquide et ont été pré-étiquetées à l'aide des informations de la patiente.
15. Répéter les étapes 1-14 pour les blastocystes restants.
16. Transférer la cryocanne dans le réservoir de congélation pour le stockage à long terme.

Références

- 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.

SYMBOLES

	RX Only				
Stérile recourant à des techniques aseptiques	Sur prescription médicale uniquement	Référence catalogue	Code de lot	Consulter le mode D'emploi	Fabricant
					
Tenir à l'abri de la lumière du soleil.	Limite de température	Représentant agréé dans la Communauté européenne	Date limite d'utilisation	Ne pas réutiliser	Code à barres DataMatrix GS1
					
Ne pas restériliser	Conformité européenne (organisme notifié)				