

EmbryoFreeze™ EmbryoThaw™

EN

Medium for freezing and thawing human embryos

Doc. reference: FP09 I10 R01 C.3
Update: 01.10.2012

INTENDED USE

EmbryoFreeze and EmbryoThaw (EmbryoFreeze/Thaw) are a set of ready-to-use media for freezing and thawing human embryos between 2PN and 4 cell stage.

COMPOSITION

EmbryoFreeze/Thaw are propandiol based cryopreservation media which also contain PBS, sucrose and human serum albumin (14-15g/Liter). EmbryoFreeze/Thaw do not contain antibiotics.

MATERIAL INCLUDED WITH THE KIT

EMF30_P* (30 procedures)

- » 3 vials of EmbryoFreeze medium (10ml)
- » 3 vials of EmbryoThaw, thawing 1 (10ml)
- » 3 vials of EmbryoThaw, thawing 2 (10ml)
- » 3 vials of EmbryoThaw, thawing 3 (10ml)

EMF40_T_P (40 procedures)

- » 4 vials of EmbryoThaw thawing 1 (10ml)
- » 4 vials of EmbryoThaw, thawing 2 (10ml)
- » 4 vials of EmbryoThaw, thawing 3 (10ml)

EMF120_F_P

- » 12 vials of EmbryoFreeze medium (10ml)

* The media should be used in the order displayed per product code.

MATERIAL NOT INCLUDED WITH THE KIT

- » sterile pipettes
- » well dishes
- » freezing straws
- » automatic freezer
- » freezing tank with liquid nitrogen (LN2)
- » waterbath (able to hold 37°C)
- » LAF bench (ISO Class 5)
- » microscope
- » labtimer

EMBRYOFREEZE/THAW AND EMBRYOCULTURE

EmbryoFreeze an EmbryoThaw can be used in combination with FertiCult media (FertiCult Flushing medium, FertiCult IVF medium and FertiCult G3 medium) before freezing and after thawing.

PRODUCT SPECIFICATIONS

- » Chemical composition
- » pH between 7,20-7,40
- » Osmolality EmbryoThaw 3: 530-560 mOsm/kg
- » Sterility: SAL 10⁻³
- » Endotoxins: < 0,25 EU/ml
- » Mouse Embryo Assay (blastocysts after 96h) ≥ 80%
- » Use of Ph Eur or USP grade raw materials (if applicable)
- » The certificate of analysis and MSDS are available upon request.

PRE-USE CHECKS

- » Do not use the product if it becomes discoloured, cloudy, or shows any evidence of microbial contamination.
- » Do not use the product if seal of the container is opened or defect when the product is delivered.

STORAGE INSTRUCTIONS

- » Store between 2-8°C.
- » Do not freeze before use.
- » Keep away from sunlight.
- » The products can be used safely up to 7 days after opening, when sterile conditions are maintained and the products are stored at 2-8°C.
- » Do not use after expiry date.

WARNINGS AND PRECAUTIONS

Standard measures to prevent infections resulting from the use of medicinal products prepared from human blood or plasma include selection of donors, screening of individual donations and plasma pools for specific markers of infection and the inclusion of effective manufacturing steps for the inactivation/removal of viruses. Despite this, when medicinal products prepared from human blood or plasma are administered, the possibility of transmitting infective agents cannot be totally excluded. This also applies to unknown or emerging viruses and other pathogens. There are no reports of proven virus transmissions with albumin manufactured to European Pharmacopoeia specifications by established processes.

Therefore, handle all specimens as if capable of transmitting HIV or hepatitis.

Always wear protective clothing when handling specimens. Always work under strict hygienic conditions (e.g. LAF-bench ISO Class 5) to avoid possible contamination.

Only for the intended use.

METHOD

Ensure all media are well mixed before use.

Freeezing

1. Using a sterile pipette place 1ml of EmbryoFreeze freez-ing medium in a centre well dish (at room temperature)
2. Add the embryos (2PN stage) to the freezing medium and allow them to settle for about 30 seconds. Caution: because of density differences the embryos tend to float upwards and shrink like raisins.
3. Load the embryos in straws leaving about 1/5 air in the straw.
4. Seal the straws and label with name, date and number of embryos.
5. Start freezing program within 5 to 10 minutes. Below is an example of a freeezing protocol.

	Temperature range	Freeezing rate	Time
Step 1	Room temperature to +4°C	-10°C/min	2 min
Step 2	+4°C to -6°C	-2°C/min	5 min
Step 3	-6°C (autoseeding)	0°C/min	10 min
Step 4	-6°C to -30°C	-0.3°C/min	80 min
Step 5	-30°C to -196°C	-199°C/min	1 min

Thawing

1. Place in a 4-well culture dish 1ml of each EmbryoThaw thawing solution (1, 2 & 3). This leaves 1 well empty to retrieve the frozen/thawed embryos.
2. Prepare a water bath at 37°C to thaw the straws. Prepare a 1ml tuberculin-syringe by filling it with 0.8ml of air first followed by 0.2ml of thawing 1.
3. Remove the straws from liquid nitrogen and leave at room temperature for about 5 seconds.
4. Submerge the straw in the waterbath at 37°C for another 5 seconds (ensure no frozen part remains in the straw).
5. Empty the straw by opening both sides of the straw (above the empty well) and blowing the contents of the syringe through the straw.
6. Retrieve the embryos using a microscope and place them in thawing solution
7. Transfer the embryos to thawing solution 2 after 3 to 5 minutes.
8. After another 3 to 5 minutes the embryos are transferred to thawing solution 3. Leave for a further 3 to 5 minutes before proceeding.
9. At the final stage the embryos are transferred in IVF culture medium for washing and further culture.

EmbryoFreeze™ EmbryoThaw™

IT

Terreni per congelare e scongelare embrioni umani

Documento di riferimento: FP09 I10 R01 C.3
Aggiornamento: 01.10.2012

USO PREVISTO

EmbryoFreeze e EmbryoThaw (EmbryoFreeze/Thaw) sono un gruppo di terreni pronti all'uso per congelare e scongelare gli embrioni umani nella fase cellulare tra 2PN e 4.

COMPOSIZIONE

EmbryoFreeze/Thaw sono terreni per criopreservazione basati su propandiolo che contengono anche PBS, saccaro-sio ed albumina sierica umana (14-15g/Litro). EmbryoFreeze/Thaw non contiene antibiotici.

MATERIALE INCLUSO NEL KIT

EMF30_P* (30 procedure)

- » 3 fiale di terreno EmbryoFreeze (10ml)
- » 3 fiale di EmbryoThaw, Thawing 1 (10ml)
- » 3 fiale di EmbryoThaw, Thawing 2 (10ml)
- » 3 fiale di EmbryoThaw, Thawing 3 (10ml)

EMF40_T_P (40 procedure)

- » 4 fiale di EmbryoThaw Thawing 1 (10ml)
- » 4 fiale di EmbryoThaw, Thawing 2 (10ml)
- » 4 fiale di EmbryoThaw, Thawing 3 (10ml)

EMF120_F_P

- » 12 fiale di terreno EmbryoFreeze (10ml)

* I terreni devono essere usati secondo l'ordine visualizzato per codice prodotto

MATERIALE NON COMPRESO NEL KIT

- » pipette sterili
- » piastre a pozzetto
- » palette da congelamento
- » freezer automatico
- » Serbatoio da congelamento con azoto liquido (LN2)
- » bagno d'acqua (capacità di mantenimento fino a 37°C)
- » LAF bench (ISO Classe 5)
- » microscopio
- » labtimer

EMBRYOFREEZE/THAW E EMBRIOCOLTURA

EmbryoFreeze ed EmbryoThaw possono essere usati insieme al terreno FertiCult (Flushing, IVF e G3) prima del congelamento e dopo lo scongelamento.

SPECIFICHE DEL PRODOTTO

- » Composizione chimica
- » pH tra 7,20-7,40
- » Osmolarità EmbryoThaw 3: 530-560 mOsm/kg
- » Sterilità: SAL 10⁻³
- » Endotossine: < 0,25 EU/ml
- » Test su embrioni murini (blastocisti dopo 96 ore) ≥ 80%
- » Utilizzo di prodotti secondo farmacopea Ph Eur o USP se applicabile
- » Il certificato delle analisi e MSDS sono disponibili su richiesta

VERIFICHE PRIMA DELL'USO

- » Non usare il prodotto se è scolorito, opaco o se presenta qualsiasi segno di contaminazione microbica.
- » Non usare il prodotto se il sigillo del contenitore è aperto o in presenza di difetti durante la consegna del prodotto.

ISTRUZIONI PER LA CONSERVAZIONE

- » Conservare a temperatura compresa tra i 2-8°C.
- » Non congelare prima dell'uso.
- » Mantenere lontano dalla luce del sole.
- » I prodotti possono essere usati in modo sicuro entro 7 giorni dall'apertura, se le condizioni per la sterilizzazione sono state mantenute ed i prodotti sono stati conservati a 2-8°C.
- » Non usare dopo la data di scadenza.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Le misure standard per prevenire le infezioni derivanti dall'uso di medicinali preparati dal sangue umano o dal plasma, includono la selezione di donatori, il monitoraggio delle donazioni individuali e dei pool plasmatici alla ricerca dei marcatori specifici di infezione e l'integrazione di fasi di produzione efficaci per inattivare/rimuovere i virus. Nonostante ciò, in corso di somministrazione di prodotti preparati da sangue umano o da plasma, non può essere totalmente esclusa la possibilità di trasmettere agenti infettivi. Questo si applica anche a virus o ad altri patogeni sconosciuti o emergenti. Non esistono rapporti che testimonino di trasmissioni di virus attraverso l'albumina prodotta in conformità con le specifiche dalla Farmacopea europea mediante i procedimenti stabiliti. Pertanto, maneggiare tutti i campioni come fossero in grado di trasmettere HIV o epatite. Indossare sempre guanti protettivi quando si maneggiano i campioni. Lavorare sempre rispettando rigorosamente le condizioni igieniche (e.s. LAF-bench ISO Classe 5) per evitare la possibile contaminazione. Solo per l'uso previsto.

METODI

Accertarsi che i terreni siano ben miscelati prima dell'uso.

Congelamento

1. Usare una pipetta sterile: collocare 1ml del terreno congelamento EmbryoFreeze nel centro della piastra a pozzetto (a temperatura ambiente).
2. Aggiungere gli embrioni (fase 2PN) al terreno di congelamento e lasciarli sedimentare per circa 30 secondi. Avvertenza: a causa delle differenze nell'intensità gli embrioni tendono a galleggiare verso l'alto ed a contrarsi come acini d'uva.
3. Caricare gli embrioni nelle palette lasciando circa 1/ 5 aria nella palette.
4. Sigillare le palette ed apporre l'etichetta con il nome, la data ed il numero di embrioni.
5. Iniziare il programma di congelamento entro da 5 a 10 minuti. Nel seguito si mostra un esempio del protocollo di congelamento.

	Intervallo temperatura	Velocità di congelamento	Tempo
Fase 1	Temperatura ambiente fino a +4°C	-10°C/min	2 min
Fase 2	da +4°C a -6°C	-2°C/min	5 min
Fase 3	-6°C (autoseeding)	0°C/min	10 min
Fase 4	da -6°C a -30°C	-0.3°C/min	80 min
Fase 5	da -30°C a -196°C	-199°C/min	1 min

Scongelamento

1. Collocare su un piastra da coltura a 4 pozzetti 1ml di ciascuna soluzione di scongelamento EmbryoThaw (1, 2 & 3). Questo lascia 1 pozzetto vuoto per recuperare gli embrioni congelati/ scongelati.
2. Preparare un bagno di acqua fino a 37°C per scongelare le palette. Preparare una siringa da tubercolina da 1ml riempendola con 0,8ml di aria seguita da 0,2ml di scongelamento 1.
3. Togliere le palette dall'azoto liquido e lasciarle a temperatura ambiente per circa 5 secondi.
4. Sommergere la palette nel bagno d'acqua a 37°C per altri 5 secondi (accertarsi che nessuna parte congelata rimanga nella palette).
5. Svuotare la palette aprendone entrambi i lati (sul pozzetto vuoto) e soffiare il contenuto della siringa lungo la palette.
6. Recuperare gli embrioni usando un microscopio e porli nella soluzione scongelante.
7. Trasferire gli embrioni nella soluzione di scongelamento 2 dopo da 3 a 5 minuti.
8. Dopo ulteriori da 3 a 5 minuti gli embrioni vengono trasferiti nella soluzione di scongelamento 3. Lasciare per ulteriori da 3 a 5 minuti prima di procedere.
9. Nella fase finale gli embrioni vengono trasferiti nel terreno di coltura IVF per il lavaggio e la successiva coltura.

EmbryoFreeze™ EmbryoThaw™

FR

Milieux pour la congélation et la décongélation d'embryons humains

Référence du document : FP09 I10 R01 C.3
Mise à jour : 01.10.2012

UTILISATION PRÉVUE

EmbryoFreeze et EmbryoThaw (EmbryoFreeze/Thaw) sont des milieux prêts à l'emploi pour la congélation et la décongélation d'embryons humains entre les stades 2PN et 4 cellules.

COMPOSITION

EmbryoFreeze/Thaw sont des milieux de cryoconservation à base de propanédiol qui contiennent également du PBS, du saccharose et de l'albumine sérique humaine (14-15g/litre). Les milieux EmbryoFreeze/Thaw ne contiennent pas d'antibiotiques.

MATÉRIEL INCLUS DANS LE KIT

EMF30_P* (30 procédures)

- » 3 flacons de milieu EmbryoFreeze (10ml)
- » 3 flacons de milieu de décongélation 1 EmbryoThaw (10ml)
- » 3 flacons de milieu de décongélation 2 EmbryoThaw (10ml)
- » 3 flacons de milieu de décongélation 3 EmbryoThaw (10ml)

EMF40_T_P (40 procédures)

- » 4 flacons de milieu de décongélation 1 EmbryoThaw (10ml)
- » 4 flacons de milieu de décongélation 2 EmbryoThaw (10ml)
- » 4 flacons de milieu de décongélation 3 EmbryoThaw (10ml)

EMF120_F_P

- » 12 flacons de milieu EmbryoFreeze (10ml)

* Les milieux doivent être utilisés dans l'ordre indiqué par code de produit.

MATÉRIEL NON INCLUS DANS LE KIT

- » Pipettes stériles
- » Boîtes à puits
- » Paillottes pour congélation
- » Congélateur automatique
- » Réservoir de congélation avec azote liquide (N2L)
- » Bain-marie
- » Poste de travail à flux d'air laminaire (classe ISO 5)
- » Microscope
- » Minuteur de laboratoire

EMBRYOFREEZE/THAW ET CULTURE D'EMBRYONS

Les milieux EmbryoFreeze et EmbryoThaw peuvent être utilisés en association avec les milieux FertiCult (FertiCult Flushing medium, FertiCult IVF medium et FertiCult G3 medium) avant la congélation et après la décongélation.

SPÉCIFICATIONS DU PRODUIT

- » Composition chimique
- » pH entre 7,20-7,40
- » Osmolalité EmbryoThaw 3 : 530-560 mOsm/kg
- » Stérilité : SAL 10⁻³
- » Endotoxines : < 0,25 EU/ml
- » Test MEA de survivance embryonnaire (blastocytes après 96h) ≥ 80%
- » Utilisation de produits de la pharmacopée européenne (Ph Eur) ou américaine (USP) le cas échéant
- » Le certificat d'analyse et la fiche toxicologique sont disponibles sur demande.

VÉRIFICATIONS AVANT UTILISATION

- » Ne pas utiliser le produit s'il est décoloré, trouble ou en cas de suspicion de contamination microbienne.
- » Ne pas utiliser le produit si le scellé du contenant est rompu ou défectueux à la livraison du produit.

INSTRUCTIONS DE STOCKAGE

- » Stocker entre 2 et 8°C.
- » Ne pas congeler avant utilisation.
- » Tenir à l'abri du soleil.
- » Les produits peuvent être utilisés en toute sécurité jusqu'à 7 jours après ouverture si des conditions de stérilité sont respectées et si les produits sont conservés entre 2 et 8°C.
- » Ne pas utiliser une fois la date de péremption dépassée.

AVERTISSEMENTS ET MESURES DE SÉCURITÉ

Les mesures standard pour prévenir les infections résultant de l'utilisation de médicaments préparés à partir de sang ou de plasma humains incluent la sélection des donneurs, la recherche de marqueurs spécifiques d'infection sur les dons individuels et les mélanges de plasma et l'inclusion d'étapes de fabrication efficaces pour l'inactivation/élimination virale. Cependant, lorsque des médicaments préparés à partir de sang ou de plasma humains sont administrés, la possibilité de transmission d'agents infectieux ne peut être totalement exclue. Ceci s'applique également aux virus inconnus ou émergents et autres agents pathogènes. Aucune transmission de virus n'a été rapportée avec l'albumine fabriquée conformément aux spécifications de la Pharmacopée Européenne selon des procédés établis.

Par conséquent, manipuler les spécimens dans les conditions prévues pour les agents susceptibles de transmettre le VIH ou l'hépatite.

Toujours porter des vêtements de protection lors de la manipulation des spécimens.

Toujours travailler dans des conditions d'hygiène strictes (par ex. poste de travail à flux d'air laminaire classe ISO 5) pour éviter une éventuelle contamination.

Ne doit être utilisé que dans le but décrit ici.

MÉTODES

Vérifier que tous les milieux soient bien mélangés avant utilisation.

Congélation

- À l'aide d'une pipette stérile, placer 1ml de milieu de congélation EmbryoFreeze dans une boîte à puits central (à température ambiante).
- Ajouter les embryons (au stade 2 PN) au milieu de congélation et les laisser se déposer pendant 30 secondes environ. Attention : en raison de différences de densité, les embryons ont tendance à remonter à la surface et à se rétrécir comme des raisins.
- Charger les embryons dans les paillettes en laissant environ 1/5e d'air dans la paillette.
- Sceller les paillettes et les étiqueter avec le nom, la date et le nombre d'embryons.
- Débuter le programme de congélation dans les 5 à 10 minutes. Ci-dessous un exemple de protocole de congélation.

	Plage de températures	Vitesse de congélation	Durée
Étape 1	Température ambiante à +4°C	-10°C/min	2 min
Étape 2	+4°C à -6°C	-2°C/min	5 min
Étape 3	-6°C (auto-ensemencement)	0°C/min	10 min
Étape 4	-6°C à -30°C	-0.3°C/min	80 min
Étape 5	-30 °C à -196°C	-199°C/min	1 min

Décongélation

- Placer 1ml de chaque solution de décongélation EmbryoThaw (1, 2 et 3) dans une boîte de culture 4 puits. Laisser un puits vide pour récupérer les embryons congelés/décongelés.
- Préparer un bain-marie à 37°C pour décongeler les paillettes. Préparer une seringue à tuberculine d'1ml en la remplissant d'abord de 0,8ml d'air puis de 0,2ml de solution de décongélation n°1.
- Retirer les paillettes de l'azote liquide et les laisser à température ambiante pendant 5 secondes environ.
- Immerger la paillette dans le bain-marie à 37°C pendant 5 secondes supplémentaires (veiller à ce qu'aucune partie congelée ne reste dans la paillette).
- Vider la paillette en ouvrant ses deux extrémités (au-dessus du puits vide) et en introduisant le contenu de la seringue dans la paillette.
- Récupérer les embryons à l'aide d'un microscope et les placer dans la solution de décongélation
- Transférer les embryons dans la solution de décongélation n° 2 après 3 à 5 minutes.
- Après 3 à 5 minutes supplémentaires, transférer les embryons dans la solution de décongélation n° 3. Les laisser encore 3 à 5 minutes avant de poursuivre.
- Enfin, transférer les embryons dans un milieu de culture pour FIV pour lavage et culture ultérieure.

EmbryoFreeze™ EmbryoThaw™

DE

Medium zum Einfrieren und Auftauen menschlicher Embryonen

Dokument-Bezugsziffer: FP09 I10 R01 C.3
Aktualisierung: 01.10.2012

VERWENDUNGSZWECK

EmbryoFreeze und EmbryoThaw (EmbryoFreeze/Thaw) sind gebrauchsfertige Medien in einem Set zum Einfrieren und Auftauen menschlicher Embryonen zwischen dem 2-PN und dem 4-Zell-Stadium.

ZUSAMMENSTELLUNG

EmbryoFreeze/Thaw sind Kryokonservierungsmedien auf Propandiolbasis, die außerdem PBS, Saccharose und Humanserumalbumin (14-15g/Liter) enthalten. EmbryoFreeze/Thaw enthalten keine Antibiotika.

IM SET ENTHALTENES MATERIAL

EMF30_P* (30 Verfahren)

- » 3 Ampullen mit EmbryoFreeze-Medium (10ml)
- » 3 Ampullen mit EmbryoThaw-Auftaumedium 1 (10ml)
- » 3 Ampullen mit EmbryoThaw-Auftaumedium 2 (10ml)
- » 3 Ampullen mit EmbryoThaw-Auftaumedium 3 (10ml)

EMF40_T_P (40 Verfahren)

- » 4 Ampullen mit EmbryoThaw-Auftaumedium 1 (10ml)
- » 4 Ampullen mit EmbryoThaw-Auftaumedium 2 (10ml)
- » 4 Ampullen mit EmbryoThaw-Auftaumedium 3 (10ml)

EMF120_F_P

- » 12 Ampullen mit EmbryoFreeze-Medium (10ml)

* Die Medien sind in der nach Produktcode angegebenen Reihenfolge zu verwenden.

NICHT IM SET ENTHALTENES MATERIAL

- » Sterile Pipetten
- » Zellkulturschalen mit Kavitäten
- » Einfrierhalm („Straws“)
- » Automatisches Einfriergerät
- » Einfrierank mit Flüssigstickstoff (LN2)
- » Wasserbad (eingestellt auf stabile 37°C)
- » Arbeitsbank zum sterilen Arbeiten (Laminar Flow bzw. LAF Bench, ISO-Klasse 5)
- » Mikroskop
- » Stoppuhr

EMBRYOFREEZE/THAW UND EMBRYONENKULTURMEDIUM

EmbryoFreeze und EmbryoThaw können vor dem Einfrieren und nach dem Auftauen mit FertiCult-Medien (FertiCult-SpülmEDIUM, FertiCult IVF-Medium und FertiCult G3-Medium) kombiniert werden.

PRODUKTSPEZIFIKATIONEN

- » Chemische Zusammensetzung
- » pH-Wert: zwischen 7.20-7.40
- » Osmolalität von EmbryoThaw 3: 530-560 mOsm/kg
- » Sterilität: SAL 10⁻³
- » Endotoxin: < 0.25 EU/ml
- » Mouse Embryo Assay (Blastozysten nach 96h) ≥ 80%
- » Gebrauch von Ph Eur oder USP Grad Produkten (gegebenenfalls)
- » Analysebescheinigung und Sicherheitsdatenblatt sind auf Anfrage erhältlich

UNTERSUCHUNGEN VOR GEBRAUCH

- » Benutzen Sie das Produkt nicht mehr, wenn es verfärbt ist, wolkig oder wenn es irgendeine Form von mikrobiellen Kontamination aufweist.
- » Benutzen Sie das Produkt nicht, wenn bei Lieferung das Siegel beschädigt oder der Container offen oder defekt ist.

HINWEISE ZUR LAGERUNG

- » Lagern zwischen 2-8°C.
- » Vor Gebrauch nicht einfrieren.
- » Vor Sonnenlicht schützen.
- » Die Produkte können nach dem Öffnen bis zu 7 Tage lang ohne Sicherheitseinbußen verwendet werden, sofern sterile Bedingungen gewahrt bleiben und die Produkte bei 2-8°C aufbewahrt werden.
- » Nach dem Verfalldatum nicht mehr benutzen.

WARNUNGEN UND ANDERE VORSICHTSMASSNAHMEN

Standardmaßnahmen zur Prävention von Infektionen infolge der Verwendung von aus Humanblut oder -plasma hergestellten Medizinprodukten beinhalten die Spenderauswahl, das Screening einzelner Spenden und Plasmapools hinsichtlich bestimmter Infektionsmarker und den Einschluss wirksamer Schritte zur Inaktivierung/Eliminierung von Viren in den Herstellungsprozess. Dennoch kann die Möglichkeit der Übertragung von Infektionserregern bei Verabreichung von aus Humanblut oder -plasma hergestellten Medizinprodukten nicht vollständig ausgeschlossen werden. Dies gilt auch für die Möglichkeit der Übertragung unbekannter oder neuer Viren und anderer Krankheitserreger. Es liegen keine Berichte über bestätigte Virusübertragungen mit Albumin vor, das nach den Spezifikationen des Europäischen Arzneibuchs mit etablierten Verfahren hergestellt wurde. Alle Proben sind daher so zu handhaben, als ob sie HIV oder Hepatitis übertragen könnten. Bei der Handhabung von Proben stets Schutzkleidung tragen. Stets unter streng aseptischen Bedingungen arbeiten (z. B. in einer Laminar-Flow-Arbeitsbank, ISO-Klasse 5), um eine mögliche Kontamination zu vermeiden. Nur für den bestimmungsgemäßen Gebrauch.

METHODEN

Alle Medien vor dem Gebrauch gut mischen.

Einfrieren

- Mit einer sterilen Pipette 1ml EmbryoFreeze-Einfriermedium in die Mitte einer IVF-Schale (Center-Well-Dish) geben (bei Raumtemperatur).
- Die Embryonen (2PN-Stadium) in das Einfriermedium geben und etwa 30 Sekunden ruhen lassen. Vorsicht: Aufgrund des Dichteunterschieds tendieren die Embryonen dazu, nach oben zu schweben und zu schrumpfen.
- Die Embryonen in Einfrierhalm geben und in dem Halm etwa 1/5 Luft lassen.
- Die Halm versiegeln und mit Namen, Datum und Anzahl der Embryonen beschriften.
- Innerhalb von 5 bis 10 Minuten das Einfrierprogramm starten. Nachstehend ist ein Beispiel für ein Einfrierprotokoll angegeben.

	Temperaturbereich	Vitesse de geschwindigkeit	Zeit
Schritte 1	Raumtemperatur bis +4°C	-10°C/Min	2 Min
Schritte 2	+4°C bis -6°C	-2°C/Min	5 Min
Schritte 3	-6°C (Autoseeding)	0°C/Min	10 Min
Schritte 4	-6°C bis -30°C	-0.3°C/Min	80 Min
Schritte 5	-30°C bis -196°C	-199°C/Min	1 Min

Auftauen

- Je 1ml einer jeden EmbryoThaw-Auftaulösung (1, 2 & 3) in je 1 Kavität einer Zellkulturschale mit 4 Kavitäten geben. In die verbleibende leere Kavität werden die eingefrorenen/aufzutauenden Embryonen gegeben.
- Zum Auftauen der Halm ein Wasserbad auf 37°C einstellen. Eine 1-ml-Tuberkulinspritze vorbereiten, indem sie mit zuerst mit 0,8ml Luft und anschließend mit 0,2ml Auftaumedium 1 gefüllt wird.
- Die Halm aus dem Flüssigstickstoff nehmen und ca. 5 Sekunden bei Raumtemperatur lassen.
- Den Halm weitere 5 Sekunden in das auf 37°C temperierte Wasserbad eintauchen (darauf achten, dass keine gefrorenen Partikel in dem Halm verbleiben).
- Den Halm durch Öffnen beider Enden (über der leeren Kavität) entleeren und den Inhalt der Spritze durch den Halm blasen.
- Die Embryonen mithilfe eines Mikroskops suchen und in die Auftaulösung geben.
- Die Embryonen nach 3 bis 5 Minuten in Auftaulösung 2 überführen.
- Die Embryonen nach weiteren 3 bis 5 Minuten in Auftaulösung 3 überführen. Vor dem Fortfahren die Embryonen dort weitere 3 bis 5 Minuten lassen.
- Abschließend werden die Embryonen zum Waschen und zur weiteren Zellkulturbehandlung in IVF-Kulturmedium überführt.

EmbryoFreeze™ EmbryoThaw™

ES

Medio para vitrificar y descongelar embriones humanos

Referencia del documento: FP09 I10 R01 C.3
Actualización: 01.10.2012

USO ESPECÍFICO

EmbryoFreeze y EmbryoThaw (EmbryoFreeze/Thaw) son un conjunto de medios listos para usar para congelar y descongelar embriones humanos entre las etapas celulares 2PN y 4.

COMPOSICIÓN

EmbryoFreeze/Thaw son medios de criopreservación a base de propanodiol que además contienen PBS, sacarosa y albúmina sérica humana (14-15g/Litro). EmbryoFreeze/Thaw no contiene antibióticos.

MATERIAL QUE SE INCLUYE CON EL JUEGO

EMF30_P* (30 procedimientos)

- » 3 recipientes de congelación EmbryoFreeze (10ml)
- » 3 recipientes de descongelación EmbryoThaw 1 (10ml)
- » 3 recipientes de descongelación EmbryoThaw 2 (10ml)
- » 3 recipientes de descongelación EmbryoThaw 3 (10ml)

EMF40_T_P (40 procedimientos)

- » 4 recipientes de descongelación EmbryoThaw 1 (10ml)
- » 4 recipientes de descongelación EmbryoThaw 2 (10ml)
- » 4 recipientes de descongelación EmbryoThaw 3 (10ml)

EMF120_F_P

- » 12 recipientes de congelación EmbryoFreeze (10ml)

* Los medios deben utilizarse en el orden mostrado en el código del producto

MATERIAL QUE NO SE INCLUYE CON EL JUEGO

- » pipetas esterilizadas
- » placa de pocillos
- » tubos para congelación
- » congelador automático
- » depósito de congelación con nitrógeno líquido (LN2)
- » baño de agua (capaz de mantener 37°C)
- » estación de flujo de aire laminar (clase ISO 5)
- » microscopio
- » temporizador

CONGELACIÓN/DESCONGELACIÓN Y CULTIVO DE EMBRIONES

EmbryoFreeze y EmbryoThaw pueden utilizarse con un medio FertiCult (medio de lavado FertiCult Flushing, medio de fertilización in vitro FertiCult IVF y medio FertiCult G3) antes de la congelación y la descongelación.

ESPECIFICACIONES DEL PRODUCTO

- » Composición química
- » pH: entre 7,20-7,40
- » Osmolalidad de EmbryoThaw 3: 530-560 mOsm/kg
- » Esterilidad: SAL 10⁻³
- » Endotoxinas: < 0,25 EU/ml
- » Ensayo en embrión de ratón (blastocitos después de 96h) ≥ 80%
- » Uso de productos que se adecuan a los requisitos de Ph Eur (Farmacopea Europea) o USP (Farmacopea de Estados Unidos), en caso de ser necesario
- » Puede obtenerse el certificado de análisis y las hojas de datos de seguridad del material a pedido.

PRUEBAS PREVIAS AL USO

- » No utilice el producto si se descolora, adquiere una apariencia turbia o si muestra alguna evidencia de contaminación microbiana.
- » No utilice el producto si el precinto del envase está abierto o presenta algún defecto cuando se entrega el producto.

INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

- » Guarde el producto a una temperatura de 2 a 8°C.
- » No enfrié el producto antes del uso.
- » Aleje el producto de la luz solar.
- » Los productos pueden utilizarse de manera inocua hasta 7 días después de que se abran, cuando se mantienen las condiciones de esterilidad y los productos se almacenan a entre 2 y 8°C.
- » No utilice el producto luego de la fecha de vencimiento.

TECHNICAL SUPPORT / SUPPORTO TECNICO / ASSISTANCE TECHNIQUE / TECHNISCHE UNTERSTÜTZUNG / ASISTENCIA TÉCNICA

ADVERTENCIAS Y PRECUACIONES

Las medidas estándares para prevenir infecciones causadas por el uso de productos medicinales preparados a partir de sangre o plasma humanos incluyen la selección de donantes, el análisis de las donaciones individuales o los grupos de plasma para buscar marcadores de infección y la incorporación de los pasos de fabricación efectivos para la inactivación/eliminación de virus. No obstante, cuando se administran productos medicinales preparados a partir de sangre o plasma humanos, no puede excluirse por completo la posibilidad de transmitir agentes infecciosos. Lo mismo ocurre con los virus desconocidos o emergentes y otros patógenos. No se informaron transmisiones de virus comprobadas con la albúmina fabricada según las especificaciones de Farmacopea Europea mediante los procesos establecidos.

Por lo tanto, todos los especímenes deben manipularse como si fuesen capaces de transmitir VIH o hepatitis.

Utilice siempre vestimenta de protección cuando manipule especímenes.

Trabaje siempre en condiciones de higiene estrictas (por ejemplo, estaciones de flujo de aire laminar clase ISO 5) para evitar la posible contaminación.

Solo para uso específico.

MÉTODOS

Asegúrese de que todos los medios están bien mezclados antes de utilizarlos.

Congelación

- Con una pipeta esterilizada, coloque 1ml del medio de congelación EmbryoFreeze en una placa de pocillos (a temperatura ambiente).
- Agregue los embriones (etapa 2PN) en el medio de congelación y espere a que se asienten durante 30 segundos. Precaución: debido a las diferentes densidades, los embriones tienden a flotar hacia arriba y arrugarse como pasas de uva.
- Coloque los embriones en tubos y deje aproximadamente 1/5 de aire en el tubo.
- Selle los tubos y colóquelos en el nombre, la fecha y el número de embriones.
- Comience el programa de congelación dentro de un periodo de entre 5 y 10 minutos. Abajo encontrará un ejemplo del protocolo de congelación.

	Rango de temperatura	Tasa de congelamiento	Tiempo
Paso 1	Temperatura ambiente de +4°C	-10°C/min	2 min
Paso 2	de +4°C a -6°C	-2°C/min	5 min
Paso 3	-6°C (Autoseeding)	0°C/min	10 min
Paso 4	de -6°C a -30°C	-0.3°C/min	80 min
Paso 5	de -30°C a -196°C	-199°C/min	1 min

Descongelación

- Coloque en una placa de cultivo de 4 pocillos 1ml de cada solución de descongelación EmbryoThaw (1, 2 y 3). De este modo, queda 1 pocillo vacío para recuperar los embriones congelados/descongelados.
- Prepare un baño de agua a 37°C para descongelar los tubos. Llene una jeringa de tuberculina con 0,8ml de aire primero y luego con 0,2ml de la solución de descongelación 1.
- Retire los tubos del nitrógeno líquido y déjelos a temperatura ambiente durante 5 segundos.
- Sumerja el tubo en el baño de agua a 37°C durante 5 segundos (asegúrese de que no queden partes congeladas en el tubo).
- Abra ambos extremos para vaciar el tubo (sobre el pocillo vacío) y descargue el contenido de la jeringa a través del tubo.
- Tome los embriones utilizando un microscopio y colóquelos en la solución de descongelación.
- Transfiera los embriones a la solución de descongelación 2 después de entre 3 y 5 minutos.
- Espere entre 3 y 5 minutos más para transferir los embriones a la solución de descongelación 3.
- Espere entre 3 y 5 minutos más antes de continuar.
- En la etapa final, los embriones deben transferirse al medio de cultivo de FIV para el lavado y el cultivo posteriores.



FertiPro N.V.
Industriepark Noord 32, 8730 Beernem, Belgium
Tel +32 (0)50 79 18 05
Fax +32 (0)50 79 17 99
URL: www.fertipro.com
E-mail: info@fertipro.com

CE
0344

STERILE A