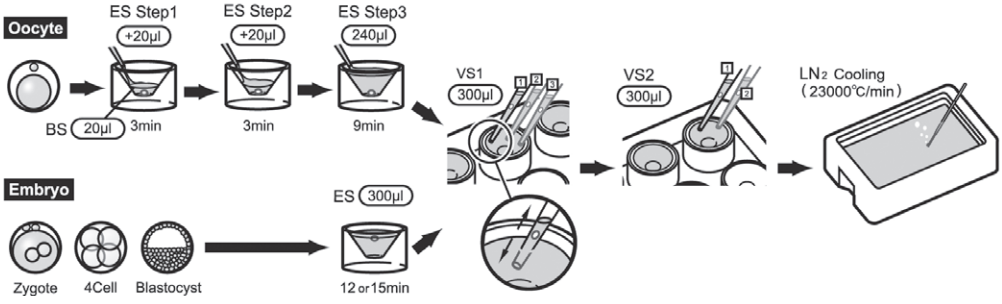
■ Vitrification Cryotop Method for Oocyte and Embryo

Vitrification Media

CE 0086

Code:VT801



Symbols on the Label Ver.10

STERILE A	Sterilized using aseptic processing techniques
	Do not reuse
REF	Catalog number
LOT	Batch code
	Use by
	Storage temperature
CE 0086	CE mark
	Manufacturer
	Do not re-sterilize
	Do not use if package is damaged
	Consult instructions for use
EC REP	Authorized representative in the European Community

EN:Intended use

This product is to be used for vitrification of oocytes(MII) and embryos.

Vitrification Media

- No. 0 (Color code: white) Basic Solution (BS): 1×1.5 ml vial (only for oocyte (MII) vitrification)
- No. 1 (Color code: blue) Equilibration Solution (ES): 1×1.5 ml vial
- No. 2 (Color code: green) Vitrification Solution (VS): 2×1.5 ml vials

Caution: Before use, check the specifications of the container and labeling (number marked on top of the cap, cap color, vial labeling color, solution name, and volume). If you notice anything unusual regarding the items mentioned above, do no use the product and please contact the distributor.

Recommended equipment
- Cryotop: 1 Cryotop stores up to 4 oocytes(MII) or 4 Embryos as a recommendation.
- ReproPlate: with 6 wells

Caution: This product is sterilized. Please handle the product in a sterile field with a clean bench.

Instructions for use (IFU)

Preparation
- Fill 90% of the Cooling Rack with fresh liquid nitrogen.
- Compare the width of perivitelline space with the thickness of zona pellucida and record it.
- Use a sterilized micropipette as a handling tool, with a suitable internal diameter for oocytes or embryos. The recommended internal diameters are as follows: 120 μm for oocytes(MII), 120 μm for pronuclear stage embryos, 150 to 180 μm for cleavage stage embryos, and 180 to 250 μm for blastocyst stage embryos.

Equilibration
Caution: Equilibration procedures for Oocyte(MII) and Embryo are different.

Equilibration of oocytes(MII)
1. Drop 20 μl for BS and 300μl each for VS1 and VS2 on the Repro Plate with micropipette.
2. Transfer the Oocyte(MII) from the culture dish to the BOTTOM of BS.
3. Step 1. Add ES 20 μl gently on the TOP of BS and leave it for 3 minutes.
   Step 2. Add another ES 20 μl gently on the TOP of BS and leave it for 3 minutes.
   Step 3. Add another ES 240 μl gently on the TOP of BS and leave it for 9 minutes.

Equilibration of embryos
1. Drop 300 μl for ES, VS1 and VS2 on the Repro plate using micropipette.
2. Transfer the Embryo to the TOP center of ES.
3. It will spontaneously begin to shrink and then gradually return to its original size by absorbing the ES solution (within 15 minutes).

Vitrification
Caution: The following steps from 1 to 9 should be completed between 60 and 90 seconds.
1. Aspirate the oocyte (MII)/ embryo from ES with the tip of a micropipette.
2. Transfer the oocyte (MII)/ embryo to the TOP center of VS1.
3. Aspirate the oocyte (MII)/ embryo with a micropipette and blow it out. Repeat this process 3 times, changing the position in VS1.
4. Transfer the oocyte (MII)/ embryo to VS2.
5. Change the position of the oocyte (MII)/ embryo in VS2 with a micropipette.
6. Place the oocyte (MII)/ embryo by the black line on the Cryotop.
7. Make a planar droplet.
8. Make sure if the oocyte (MII)/ embryo is on the Cryotop with a minimal volume of VS2 (less than 0.1 μl) under a microscope.
9. Plunge the Cryotop immediately in liquid nitrogen.
10. Put the Cryotop in a cane and store it in a storage tank.

Quality control specification

The following tests were performed for each lot of this product:
- Sterility by the current USP Sterility Test <71> (Solutions)
- Endotoxin by LAL methodology
- Mouse Embryo Assay (OneCell)
- pH (Ph.Eur., USP)
- Osmolality (Ph.Eur., USP)

Storage instructions and stability

Solutions: Store the vials at 2 to 8 ºC
This product is stable until the expiry date labeled on the vial.

Composition

- HEPES within Basic Culture Medium
- Ethylene Glycol
- Dimethyl Sulfoxide
- Trehalose
- Hydroxypropyl Cellulose

Contraindications

- Do not re-sterilize.
- Do not re-use.
- Do not use solution that shows cloudiness or has turned yellow.
- Do not use the product if you notice anything unusual regarding the specifications on the label (number, color, name, volume).
- Sterile if the package or container is unopened or undamaged. Do not use if the package or container are opened or damaged.
- Upon delivery media must be stored in original unopened container and refrigerated at 2-8 ºC.
- Do not use and please discard if the media is not stored under refrigeration (2 to 8 ºC).
- Do not use the product if past the expiration date.

Warning

- Read the instructions for use prior to use.
- Use the thawing media VT802 to thaw the oocytes (MII) or embryos vitrified with KITAZATO vitrification media
- This product is intended to be used by medical specialists trained in fertility treatment.
- Aseptic technique should be used.
- Use sterilized equipment and materials only.
- Decontaminate the workroom for aseptic procedures.
- Follow procedures in an environmentally controlled room.
- Confirm the level of liquid nitrogen once every two weeks
- Wear sterilized gloves, hat, white coat to prevent contamination
- Use timer during operation. Prepare another timer for backup in case the battery runs out
- In case of eye or skin contact with Vitrification/Thawing media, immediately flush eye/skin with water.
- Morphologically abnormal oocytes, embryos, or significantly poor grade oocytes or embryos are unsuitable for cryopreservation
- Operation must be conducted by two people and perform a double check
- Observe all federal, state and local environmental regulations when discarding the product.
- Request a qualified waste disposal contractor to dispose the products as residual and non-reusable solutions.
- Dispose the contaminated containers and packages the same way as instructed for containers containing the product inside.
- In case of infection, dispose the product appropriately in a prescribed manner. .
- The user shall be responsible for any problems caused by non-conformity to the present IFU.

IT:Uso

Questo prodotto viene utilizzato per la vitrificazione di ovociti (MII) ed embrioni.

Vitrification Media

- N. 0 (Codice colore: bianco Soluzione Basica (BS): 1fiala da 1.5 ml (solo per la vitrificazione degli ovociti (MII))
- N. 1 (Codice colore: blu) Soluzione di Equilibrazione (ES): 1 fiala da 1.5 ml
- N. 2 (Codice colore: verde) Soluzione di Vitrificazione (VS): 2 fiale da 1.5 ml

Attenzione: Prima dell'uso, controllare le specifiche del contenitore e l'etichettatura (numero contrassegnato sulla parte superiore del tappo, colore del tappo, colore etichetta fiala, nome soluzione e volume). In caso di anomalie riguardo le parti menzionate sopra, non utilizzare il prodotto e contattare il fornitore.

Accessori raccomandati
- Cryotop: consigliamo di utilizzare 1 Cryotop per conservar fino ad un massimo di 4 ovociti (MII) o di 4 embrioni.
- Repro Plate: piastre con 6 pozzetti

Attenzione: Questo prodotto è sterilizzato. Maneggiare il prodotto in un ambiente sterile su banco da laboratorio.

Istruzioni per l'uso (IFU)

Preparazione
- Riempire il 90% del Cooling Rack con azoto liquido.
- Confrontare la larghezza dello spazio perivitellino con lo spessore della zona pellucida. Registrare tale misura.
- Usare una micropipetta sterilizzata come strumento di manipolazione, con un adeguato diametro interno per ovociti o embrioni. I diametri interni raccomandati sono i seguenti: 120 μm per ovociti (MII), 120 μm per embrioni dello stadio prenucleare, 150 a 180 μ m per embrioni in fase di scissione, e 180 a 250 μm per embrioni in fase blastocistica.

Equilibrazione
Attenzione: per equilibrare gli ovociti (MII) si ricorre a procedure diverse

Equilibrazione degli ovociti (MII)
1. Con una micropipetta, versare 20 μl di ES e 300μl di VS1 e VS2 sul Repro Plate.
2. Spostare l'ovocito (MII) dal piatto di coltura al FONDO della BS.
3. Step 1. Aggiungere delicatamente 20 μl di ES sulla parte SUPERIORE della BS. Lasciare agire per 3 min.
   Step 2. Aggiungere delicatamente altri 20 μl di ES sulla parte SUPERIORE della BS. Lasciare agire per 3 min.
   Step 3. Aggiungere delicatamente altri 240 μl di ES sulla parte SUPERIORE della BS. Lasciare agire per 9 minuti.

Equilibrazione degli embrioni
1. Con una micropipetta, versare 300 μl di ES, di VS1 e VS2 sul Repro plate.
2. Spostare l'embrione sulla parte SUPERIORE centrale della ES.
3. L'embrione, automaticamente, comincerà a restringersi e, poi, gradualmente (in circa 15 minuti) , a riassumere le dimensioni originali grazie all'assorbimento di soluzione ES.

Vitrificazione
Attenzione: eseguire i seguenti passi, dall'1 al 9, in un periodo di tempo compreso tra 60 e 90 secondi.
1. Aspirare l'ovocito (MII) / embrione dalla ES servendosi della punta di una micropipetta.
2. Spostare l'ovocito (MII) / embrione nella parte SUPERIORE centrale di VS1.
3. Aspirare l'ovocito (MII) / embrione servendosi della micropipette e rimuoverlo. Ripetere l'operazione per 3 volte, cambiando la posizione nella VS1.
4. Spostare l'ovocito (MII) / embrione alla VS2.
5. Cambiare la posizione dell'ovocito (MII) / embrione nella VS2 servendosi di una micropipetta.
6. Posizionare l'ovocito (MII) / embrione vicino alla linea nera del Cryotop.
7. Ottenere una goccia piatta.
8. Assicurarsi con il microscopio che l'ovocito (MII) / embrione sul Cryotop abbia un volume minimo di VS2 (inferiore a 0.1 μl)
9. Immergere il Cryotop rapidamente nell'azoto liquido.
10. Inserire il Cryotop in un tubo e conservare in un recipient per lo stoccaggio.

Test di controllo della qualità

Ogni lotto di questo prodotto viene sottoposto ai seguenti test
- Controllo della sterilizzazione mediante il test di sterilità USP <71> (Soluzioni)
- Rilevamento di Endotossine mediante il LAL test
- Analisi su embrione di topo (Una cellula)
- pH (Ph.Eur., USP)
- Osmolalità (Ph.Eur., USP)

Istruzioni per lo stoccaggio e la stabilità

Soluzioni: Conservare le fiale a una temperature compresa tra 2 e 8 ºC
Questo prodotto è integro fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta della fiala.

Composizione

- HEPES in terreno di coltura basico
- Glicole Etilenico
- Dimetil Solfossido
- Trealosio
- Idrossipropilcellulosa

Controindicazioni

- Non risterilizzare.
- Non riutilizzare.
- Non utilizzare soluzioni che si presentino torbide o di colore giallastro.
- Non utilizzare il prodotto in caso di anomalie che riguardano le specifiche sull'etichetta. (numero, colore, nome, volume)
- Sterilizzare se la confezione o il contenitore risultano aperti o danneggiati. Non usare se la confezione o il contenitore risultano aperti o danneggiati.
- Al momento della consegna i prodotti devono essere conservati nel contenitore originale sigillato e refrigerati ad una temperatura compresa tra i 2 e gli 8 ºC.
- Non utilizzare e gettare se i terreni non sono conservati in refrigerazione (tra 2 e 8 ºC).
- Non usare il prodotto superata la data di scadenza.

Avvertenze

- Prima dell'uso leggere le istruzioni.
- Utilizzare i terreni di scongelamento VT802 per scongelare gli ovociti (MII) o embrioni vitrificati con terreni di vitrificazione KITAZATO.
- Questo prodotto è stato realizzato per essere utilizzato da personale medico con adeguate conoscenze in trattamenti per la fertilità.
- Utilizzare tecniche asettiche.
- Utilizzare solo apparecchiature e materiali sterilizzati.
- Decontaminare l'area di lavoro per procedure asettiche
- Operare in un luogo con condizioni ambientali controllate.
- Confermare il livello di azoto liquido una volta ogni due settimane
- Indossare guanti, cuffia e camice per evitare la contaminazione
- Utilizzare un timer durante l'operazione. Preparare un altro timer per il backup in caso di esaurimento della batteria
- Sciacquare immediatamente gli occhi o la pelle con acqua in caso di contatto con la Vitrificazione/terreno di scongelamento.
- Ovociti, embrioni morfologicamente anomali, o ovociti o embrioni di scarsa qualità non sono adatti per la criocconservazione.
- L'operazione deve essere effettuata da due persone e deve essere realizzato un doppio controllo
  Rispettare tutte le normative ambientali federali, statali e locali per lo smaltimento del prodotto
- Smaltire i prodotti come le soluzioni residue e non riutilizzabili con un'azienda per lo smaltimento dei rifiuti
- Smaltire i contenitori e le confezioni come indicato per i contenitori del prodotto interno.
- In caso di contaminazione, smaltire il prodotto in modo appropriato secondo quanto riportato.
- L'utente sarà responsabile di eventuali problemi causati dalla non conformità al presente IFU.

FR : Usage prévu

Ce produit permet de vitrifier des ovocytes (MII) et des embryons.

Milieux de vitrification

- No 0 (Code couleur : blanc) Solution de base (BS) : 1 fiole de 1,5 ml (uniquement pour la vitrification ovocytaire (MII))
- No 1 (Code couleur : bleu) Solution d'équilibration (ES) : 1 fiole de 1,5 ml
- No 2 (Code couleur : vert) Solution de vitrification (VS) : 2 fioles de 1,5 ml

Avertissement : Avant utilisation, vérifiez bien les caractéristiques du récipient et de l'étiquette (numéro figurant sur le bouchon, couleur du bouchon, couleur de l'étiquette de la fiole, nom de la solution et quantité). Si vous constatez quoi que ce soit d'inhabituel parmi les éléments susmentionnés, veuillez ne pas utiliser le produit et contacter le distributeur.

Matériel requis
- Cryotop : 1 Cryotop contient jusqu'à 4 ovocytes (MII) ou 4 embryons suivant les recommandations.
- Plaque de culture : 6 puits

Avertissement : Ce produit est stérilisé. Veuillez le manipuler sur un champ stérile et une paillasse propre.

Consignes d'utilisation

Préparation
- Remplir le réservoir de refroidissement à 90 % avec de l'azote liquide.
- Comparer la largeur de l'espace périvitellin à l'épaisseur de la zone pellucide puis en prendre note.
- Utiliser une micropipette stérilisée pour la manipulation, avec un diamètre interne adapté aux ovocytes et aux embryons. Les diamètres internes recommandés sont les suivants : 120 μm pour les ovocytes (MII), 120 μm pour les embryons au stade pronucléaire, de 150 à 180 μm pour les embryons au stade du clivage, et de 180 à 250 μm pour les embryons au stade blastocyste.

Équilibration
Avertissement : Les procédures d'équilibration sont différentes pour les ovocytes (MII) et pour les embryons.

Équilibration des ovocytes (MII)
1. À l'aide d'une micropipette, déposer 20 μl de BS et 300 μl de VS1 et de VS2 chacune sur la plaque de culture.
2. Transférer l'ovocyte (MII) de la boîte de Pétri vers le FOND de la BS.
3. Étape 1. Ajouter délicatement 20 μl d'ES à la SURFACE de la BS et laisser reposer pendant 3 minutes.
   Étape 2. Ajouter de nouveau 20 μl d'ES à la SURFACE de la BS et laisser reposer pendant 3 minutes.
   Étape 3. Ajouter délicatement 240 μl d'ES à la SURFACE de la BS et laisser reposer pendant 9 minutes.

Équilibration des embryons
1. À l'aide d'une micropipette, déposer 300 μl d'ES, de VS1 et de VS2 sur la plaque de culture.
2. Déplacer l'embryon au centre de la SURFACE de l'ES.
3. Il va commencer spontanément à rétrécir avant de retrouver progressivement sa taille normale en absorbant la solution ES (en 15 minutes).

Vitrification
Avertissement : Les étapes suivantes, de 1 à 9, doivent durer entre 60 et 90 secondes.
1. Aspirer l'ovocyte (MII) / embryon situé dans la ES avec l'embout d'une micropipette.
2. Déplacer l'ovocyte (MII) / embryon au milieu de la SURFACE de la VS1.
3. Aspirer l'ovocyte (MII) / embryon à l'aide d'une micropipette puis le rejeter. Répéter cette opération 3 fois en le changeant de position dans la VS1.
4. Transférer l'ovocyte (MII) / embryon vers la VS2.
5. Changer la position de l'ovocyte (MII) / embryon dans la VS2 à l'aide d'une micropipette.
6. Placer l'ovocyte(MII) / embryon à côté de la ligne noire tracée sur le Cryotop.
7. Constituer une gouttelette plane.
8. Vérifier que l'ovocyte (MII) / embryon se trouve bien sur le Cryotop avec une quantité minimale de VS2 (moins de 0,1 μl) sous le microscope.
9. Plonger immédiatement le Cryotop dans de l'azote liquide.
10. Introduire le Cryotop dans un tube et le conserver dans une cuve de stockage.

Tests de contrôle qualité

Les tests suivants ont été réalisés sur chaque lot de ce produit :
- Test de stérilité de la pharmacopée américaine USP <71> (Solutions)
- Endotoxines : méthode LAL
- Tests sur embryons de souris (une cellule)
- pH (Ph.Eur., USP)
- Osmolarité (Ph.Eur., USP)

Conditions de conservation et stabilité

Solutions : Stocker les fioles entre 2et 8 ºC.Ce produit est stable jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette.

Composition

- HEPES dans un milieu de culture de base
- Éthylene glycol
- Diméthylsulfoxyde
- Tréhalose
- Hydroxypropyl cellulose

Contre-indications

- Ne pas restériliser.
- Ne pas réutiliser.
- Ne pas utiliser une solution trouble ou ayant viré au jaune.
- Ne pas utiliser le produit si vous constatez quoi que ce soit d'inhabituel dans les caractéristiques de l'étiquette (nombre, couleur, nom, quantité).
- Si l'emballage ou le récipient n'est pas ouvert ni endommagé, ce produit est stérile. Ne pas utiliser si l'emballage ou le récipient est ouvert ou endommagé.
- Après livraison, les milieux doivent être conservés dans leur récipient original non ouvert et réfrigérés entre 2 et 8 ºC.
- Ne pas utiliser et jeter si les milieux ne sont pas conservés sous réfrigération (de 2 à 8 ºC).
- Ne pas utiliser le produit après la date de péremption.

Avertissements

- Lire les consignes avant utilisation.
- Utiliser les milieux de réchauffement VT802 pour décongeler les ovocytes (MII) ou les embryons vitrifiés avec les milieux de vitrification KITAZATO.
- Ce produit est destiné à être utilisé par un personnel médical spécialisé dans le traitement de la fertilité.
- Une technique aseptique doit être utilisée.
- Utiliser uniquement des instruments et des matériels stérilisés.
- Décontaminer la salle de travail pour les procédures aseptiques.
- Réaliser les procédures dans une pièce à l'atmosphère contrôlée.
- Vérifier les niveaux d'azote liquide toutes les deux semaines.
- Porter des gants, une charlotte et une blouse blanche stérilisés pour éviter la contamination.
- Utiliser un minuteur durant l'opération. Préparer un autre minuteur au cas où la batterie du premier se décharge.
- En cas de contact direct avec les milieux de vitrification / réchauffement, rincer immédiatement les yeux / la peau à l'eau claire.
- Les ovocytes / embryons anormaux du point de vue morphologique ou les ovocytes / embryons à un stade très peu développé ne conviennent pas à la cryoconservation.
- La manipulation doit être effectuée par deux personnes qui effectueront par la suite un double contrôle.
- Respecter toutes les réglementations environnementales locales, fédérales ou nationales lorsque vous vous débarrassez du produit.
- Faire appel à une société de collecte de déchets qualifiée pour se débarrasser des produits ainsi que des solutions résiduelles non réutilisables.
- Jeter les récipients et les emballages contaminés conformément aux instructions données pour les récipients contenant le produit.
- En cas d'infection, jeter le produit de façon adéquate conformément aux instructions.
- L'utilisateur sera tenu responsable de tout incident pouvant découler d'un manquement aux présentes consignes d'utilisation.

DE : Anwendungszweck

Dieses Produkt ist für die Vitrifikation von Eizellen (MII) und Embryonen bestimmt.

Vitrifikationsmedien

- Nr. 0 (Farbcode weiß) Basislösung (BS): 1 Ampulle ×1.5 ml (nur für die Vitrifikation der Eizellen (MII))
- Nr. 1 (Farbcode: blau) Equilibrierungslösung (ES): 1 Ampulle ×1.5 ml
- Nr. 2 (Farbcode: grün) Vitrifikationslösung (VS): 2 Ampullen x1.5 ml

Warnung: Vor der Benutzung überprüfen Sie bitte die Angaben auf dem Behälter und dem Etikett (Nummer auf dem Verschluss, Farbe des Verschlusses, Farbe des Ampullenetiketts, Bezeichnung der Lösung und Volumen). Verwenden Sie das Produkt nicht, falls Ihnen irgendetwas Ungewöhnliches in Bezug auf diese Punkte auffällt, und wenden Sie sich an den Vertreiber.

Empfohlenes Zubehör
- Cryotop: 1 Cryotop kann bis zu 4 Eizellen (MII) oder 4 Embryonen fassen.
- ReproPlate mit 6 Vertiefungen

Achtung: Dieses Produkt ist steril. Handhaben Sie das Produkt in einem sterilen Umfeld auf einem sauberen Labortisch.

Gebrauchsanweisung

Vorbereitung
- Füllen Sie 90% der Cryowanne (Cooling Rack) mit frischem Flüssigstickstoff.
- Vergleichen Sie die Breite des perivitellinen Raums mit der Zona Pellucida und zeichnen Sie das Ergebnis auf.
- Verwenden Sie als Arbeitsinstrument eine sterile Mikropipette mit einem geeigneten Innendurchmesser für Eizellen oder Embryonen. Wir empfehlen folgenden Innendurchmesser: 120 μm für Eizellen (MII), 120 μ m für Embryonen im Keimstadium, 150 bis 180 μm im Zellteilungsstadium und 180 bis 250 μm für Embryonen im Blastozysten-Stadium.

Equilibrierungsverfahren
Achtung: Das Equilibrierungsverfahren für Eizellen (MII) und Embryonen ist verschieden.

Eizellen-Equilibrierung (MII)
1. Tropfen Sie mit der Mikropipette 20 μl der BS und je 300μl der VS1 und VS2 auf die Repro Plate
2. Übertragen Sie die Eizelle (MII) von der Kulturschale auf den Boden der BS.
3. Schritt 1. Geben Sie vorsichtig 20 μl ES auf die Oberfläche der BS, und warten Sie 3 Minuten
   Schritt 2. Geben Sie vorsichtig weitere 20 μl ES auf die Oberfläche der BS, und warten Sie weitere 3 Minuten.
   Schritt 3. Geben Sie vorsichtig weitere 240 μl auf die Oberfläche der BS, und lassen Sie die Lösung 9 Minuten wirken.

Embryonen-Equilibrierung
1. Tropfen Sie mit der Mikropipette je 300 μl der ES, VS1 und VS2 auf die Repro Plate.
2. Übertragen Sie den Embryo mittig auf die Oberfläche der ES.
3. Der Embryo beginnt spontan zusammenzuschrumpfen, und kehrt nach und nach zu seiner Originalgröße zurück, während er die ES Lösung aufnimmt (innerhalb von 15 Minuten).

Vitrifikation
Achtung: Die folgenden Schritte 1 bis 9 müssen innerhalb von 60 bis 90 Sekunden ausgeführt werden. .
1. Saugen Sie die Eizelle (MII) bzw. den Embryo aus der ES mit der Spitze der Mikropipette an. .
2. Übertragen Sie die Eizelle (MII) bzw. den Embryo nun mittig auf die Oberfläche der VS1.
3. Saugen Sie die Eizelle (MII) bzw. den Embryo mit der Mikropipette an und blasen Sie sie/ ihn wieder aus. Dieser Prozess muss 3 x wiederholt werden, unter Veränderung der Position in der VS1.
4. Übertragen Sie die Eizelle (MII) bzw. den Embryo in die VS2.
5. Verändern Sie mithilfe der Mikropipette die Position der Eizelle (MII) bzw. des Embryos in der VS2.
6. Platzieren Sie die Eizelle (MII) bzw. den Embryo auf der schwarzen Linie des Cryotop-Behälters.
7. Machen Sie ein flachen Tröpfchen.
8. Überprüfen Sie unter dem Mikroskop, ob die Eizelle (MII) bzw. der Embryo auf dem Cryotop nur mit einem minimalen Volumen der VS2 (unter 0.1 μl) behaftet ist.
9. Tauchen Sie das Cryotop unverzüglich in den Flüssigstickstoff.
10. Legen Sie das Cryotop in ein Röhrchen und bewahren Sie es in einem Speichertank auf.

Qualitätskontrolle

Folgende Tests wurden für jede Charge dieses Produkts durchgeführt:
- Sterilität durch die gängigen USP <71> - Sterilitätstests (Lösungen)
- Messung der Endotoxine durch den LAL - Test
- Maus-Bioassay (MBA) - Einzeller
- pH (Ph.Eur., USP)
- Osmolarität (Ph.Eur., USP)

Lagerungshinweise und Stabilität

Lösungen: Lagern Sie die Ampullen bei einer Temperatur von 2 bis 8 ºC
Dieses Produkt ist bis zum auf der Ampulle angegebenen Verfallsdatum stabil.

Zusammensetzung

- HEPES in einem Basis-Kulturmedium
- Ethylenglycol
- Dimethylsulfoxid
- Trehalose
- Hydroxypropylcellulose

Kontraindikationen

- Nicht erneut sterilisieren.
- Nicht wiederverwenden.
- Die Lösung nicht verwenden, wenn sie trüb ist oder eine gelbe Farbe aufweist.
- Verwenden Sie das Produkt nicht, wenn Ihnen irgendetwas Ungewöhnliches bezüglich der Angaben auf dem Etikett (Nummer, Farbe, Bezeichnung, Volumen) auffällt.
- Steril, sofern die Verpackung oder der Behälter nicht beschädigt oder geöffnet worden sind. .
- Sofort nach Erhalt muss das Medium im ungeöffneten Originalbehälter gekühlt bei 2 bis 8 ºC aufbewahrt werden.
- Bitte nicht verwenden, und entsorgen, wenn das Medium nicht gekühlt aufbewahrt worden ist (2 bis 8 ºC).
- Bitte nicht verwenden, wenn das Produkt abgelaufen ist.

Warnhinweise

- Lesen Sie vor der Verwendung die Gebrauchsanweisung.
- Verwenden Sie das Auftaumedium VT802, um die mit dem Kitazato Vitrifikationsmedium vitrifizierten Eizellen (MII) oder Embryonen aufzutauen.
- Dieses Produkt ist nur für die Anwendung durch medizinische Fachkräfte gedacht, die auf Fruchtbarkeitsbehandlungen spezialisiert sind.
- Stets aseptische Arbeitsverfahren beachten.
- Verwenden Sie nur sterile Geräte und sterilisiertes Material.
- Desinfizieren Sie den Arbeitsbereich, um aseptische Verfahren zu garantieren.
- Führen Sie das Verfahren in einem Raum mit kontrollierten Bedingungen durch.
- Überprüfen Sie alle zwei Wochen den Spiegel des Flüssigstickstoffs.
- Benutzen Sie sterile Handschuhe, einen Laborkittel und eine Kopfbedeckung , um eine Kontamination zu vermeiden.
- Verwenden Sie eine Schaltuhr während des Verfahrens, und halten Sie eine weitere bereit, falls die Batterie versagen sollte.
- Bei eventuellem Augen- oder Hautkontakt mit dem Vitrifikations- oder Auftaumedium sofort mit klarem Wasser ausspülen.
- Morphologisch anormale Eizellen und Embryonen oder solche mit signifikant niedriger Bewertung eignen sich nicht für die Kryokonservierung.
- Das Verfahren muss von zwei Fachkräften unter erneuter Überprüfung durchgeführt werden.
- Beachten Sie bei Entsorgung des Produkts alle Umweltvorschriften des Staats, der Länder und die lokalen Regulierungen.
- Beauftragen Sie ein qualifiziertes Unternehmen für die Abfallbeseitigung, um die Produkte als Restabfall und nicht wiederverwendbare Lösungen zu entsorgen.
- Entsorgen Sie die kontaminierten Behälter und Verpackungen auf die gleiche Art und Weise wie es für die Behälter, die das Produkt enthalten, beschrieben wird.
- Im Fall einer Infektion, entsorgen Sie das Produkt bitte auf eine geeignete, vorher festgelegte Art und Weise.
- Der Benutzer ist verantwortlich für jegliche Probleme, die durch Nichteinhaltung dieser Gebrauchsanweisungen entstehen.

KITAZATO®

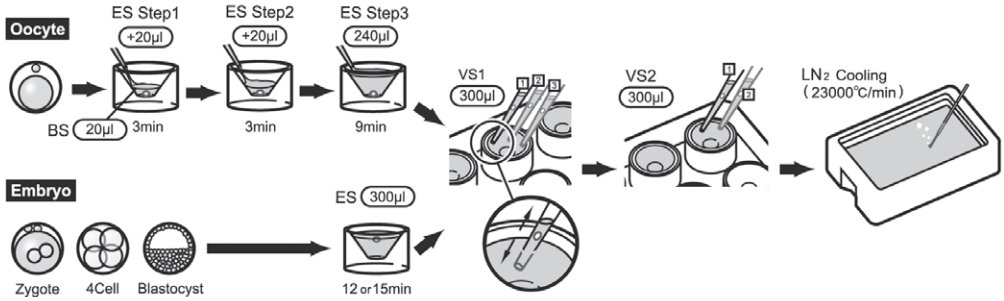
Copyright © Kitazato Corporation All Rights Reserved.

■ Vitrification Cryotop Method for Oocyte and Embryo

Vitrification Media

CE 0086

Code:VT801



Symbols on the Label

STERILE A	Sterilized using aseptic processing techniques
	Do not reuse
REF	Catalog number
LOT	Batch code
	Use by
	Storage temperature
CE 0086	CE mark
	Manufacturer
	Do not re-sterilize
	Do not use if package is damaged
	Consult instructions for use
EC REP	Authorized representative in the European Community

PT:Uso previsto
Este produto serve para a vitrificação de ovócitos (MII) e embriões.

Meios de Vitrificação
- N.º 0 (Código de cor: branco) Solução Básica (BS): 1 frasco x 1,5 ml (apenas para a vitrificação de ovócitos (MII))
- N.º 1 (Código de cor: azul) Solução de Equilíbrio (ES): 1 frasco x 1,5 ml
- N.º 2 (Código de cor: verde) Solução de Vitrificação (VS): 2 frascos × 1,5 ml

❶**Atenção:** Antes de usar, verificar as especificações do recipiente e da etiqueta (número marcado na tampa, cor da tampa, cor da etiqueta do frasco, nome da solução e volume). No caso de haver algo invulgar relacionado com algum dos pontos acima mencionados, não usar o produto e contactar o distribuidor.

Equipamento recomendado
- Cryotop: 1 Cryotop armazena até 4 ovócitos (MII) ou 4 embriões, segundo recomendação.
- Microplaca: de 6 poços

❶**Atenção:** Este produto está esterilizado. Manipular o produto em ambiente esterilizado, numa bancada limpa.

Instruções de utilização
Preparação
- Encher 90% do tabuleiro de arrefecimento com azoto líquido fresco.
- Comparar a largura do espaço perivitelino com a espessura da zona pelúcida e registe esse dado.
- Utilizar uma micropipeta esterilizada como ferramenta de manipulação, com um diâmetro interno adequado para ovócitos e embriões. Os diâmetros internos recomendados são os seguintes: 120 μm para ovócitos (MII), 120 μm para embriões em estágio pronuclear, 150 a 180 μ m para embriões em estágio de clivagem e 180 a 250 μm para embriões em estágio de blastocisto.

Equilibração
❶**Atenção:** Os procedimentos de equilibração para ovócitos (MII) e embriões são diferentes.

Equilibração de ovócitos (MII)
1. Verter 20 μl de BS e 300 μl de VS1 e a VS2 na microplaca utilizando uma micropipeta.
2. Transferir o ovócito (MII) da placa de cultivo para o FUNDO da BS.
3. Passo 1. Adicionar suavemente 20 μl de ES na PARTE SUPERIOR da BS e deixar repousar 3 minutos.
   Passo 2. Adicionar suavemente outros 20 μl de ES na PARTE SUPERIOR da BS e deixar repousar 3 minutos.
   Passo 3. Adicionar suavemente outros 240 μl de ES na PARTE SUPERIOR da BS e deixar repousar 9 minutos.

Equilibração de embriões
1. Verter 300 μl de ES, VS1 e VS2 na microplaca utilizando a micropipeta.
2. Transferir o embrião para o centro da PARTE SUPERIOR de ES.
3. Vai começar spontaneamente a encolher e depois, de forma gradual, vai voltar ao tamanho original, ao absorver a solução ES (no prazo de 15 minutos).

Vitrificação
❶**Atenção:** Os seguintes passos de 1 a 9 devem ser realizados no prazo de 60 a 90 segundos.
1. Aspirar o ovócito (MII)/embrião da ES com a ponta da micropipeta.
2. Transferir o ovócito (MII)/embrião para o centro da PARTE SUPERIOR de VS1.
3. Aspirar o ovócito (MII)/embrião utilizando uma micropipeta e expulsá-lo. Repetir este processo três vezes, alterando a posição na VS1.
4. Transferir o ovócito (MII)/embrião para a VS2.
5. Alterar a posição do ovócito (MII)/embrião na VS2 utilizando uma micropipeta.
6. Colocar o ovócito (MII)/embrião junto à linha preta no Cryotop.
7. Fazer uma goticula plana.
8. Verificar, com o microscópio, se o ovócito (MII)/embrião está na lâmina Cryotop com um volume mínimo de VS2 (menos 0.1 μl).
9. Submergir o Cryotop imediatamente em nitrogénio líquido.
10. Colocar o Cryotop num tubo e guardá-lo num tanque de armazenamento.

Testes de controlo de qualidade
Foram realizados os seguintes testes em cada lote deste produto:
- Controlo de esterilização através do teste de esterilidade USP atual <71> (soluções)
- Deteção de endotoxinas através da metodologia LAL
- Ensaio com embrião de rato (uma célula)
- Teste de pH (Ph.Eur., USP)
- Teste de osmolalidade (Ph.Eur., USP)

Instruções de armazenamento e estabilidade
Soluções: Conservar os frascos entre 2 e 8ºC
Este produto é estável até à data de validade indicada no frasco.

Composição
- HEPES em meio de cultura básico
- Etileneglicol
- Dimetilsulfóxido
- Trealose
- Hidroxipropilcelulosa

Contraindicação
- Não esterilizar novamente.
- Não reutilizar.
- Não utilizar uma solução que está turva ou amarelada.
- Não utilizar o produto se houver algo invulgar nas especificações da etiqueta (número, cor, nome, volume)
- Estéril se a embalagem ou o recipiente estiverem fechados e intactos. Não utilizar se a embalagem ou o recipiente estiverem deteriorados.
- Depois de recebidos, os meios devem ser conservados no recipiente original fechado e refrigerados entre 2 e 8ºC.
- Não utilizar e descartar os meios não estiverem conservados em frio (2 a 8ºC).
- Não utilizar se o produto estiver fora da data de validade.

Advertência
- Ler as instruções de utilização antes de usar.
- Utilizar os meios de descongelação VT802 para descongelar os ovócitos (MII) ou embriões vitrificados através de meios de vitrificação KITAZATO.
- Este produto deve ser utilizado por médicos especialistas em tratamentos de fertilidade.
- Devem-se aplicar técnicas asséticas.
- Utilizar apenas equipamento e materiais esterilizados.
- Descontaminar a área de trabalho para procedimentos asséticos.
- Realizar os procedimentos numa sala com atmosfera controlada.
- Confirmar o nível de nitrogénio líquido cada duas semanas
- Utilizar luvas esterilizadas, touca e bata branca para prevenir a contaminação
- Utilizar temporizador durante a operação. Preparar outro temporizador de reserva, para o caso de ficar sem bateria
- Em caso de contacto dos meios de vitrificação/descongelação com os olhos ou a pele, enxaguar imediatamente com água abundante.
- Os ovócitos e embriões morfologicamente anómalos bem como os ovócitos e embriões de qualidade significativamente insuficiente são impróprios para a criopreservação
- A operação deve ser levada a cabo por duas pessoas e ser duplamente verificada.
- Cumprir as normas ambientais nacionais e locais ao deitar fora o produto.
- Contratar uma empresa de gestão de resíduos para eliminar os produtos como resíduos e soluções não reutilizáveis.
- Eliminar os recipientes e embalagens contaminados da mesma forma indicada para os recipientes com produto.
- Em caso de infeção, eliminar o produto de forma adequada seguindo as instruções. .
- O utilizador será responsável pelos problemas causados pelo incumprimento destas instruções de utilização.

PL : Przeznaczenie
Niniejszy produkt przeznaczony jest do witryfikacji oocytów (MII) i zarodków.

Środki do witryfikacji
- Nr 0 (Kod koloru: biały) Podstawowy roztwór (BS): fiolka 1×1.5 ml (tylko do witryfikacji oocytu (MII)
- Nr 1 (Kod koloru: niebieski) Roztwór do równoważenia (ES): fiolka 1×1.5 ml
- Nr 2 (Kod koloru: zielony) Roztwór do witryfikacji (VS): fiolki 2×1.5 ml

❶**Uwaga:** Przed użyciem, należy sprawdzić opis techniczny znajdujący się na pojemniku i etykiecie (numer na górze pokrywki, kolor pokrywki, kolor etykiety fiolki, nazwę roztworu i objętość). Jeśli zauważysz nieprawidłowości dotyczące powyższych szczegółów, nie używaj produktu i skontaktuj się z dystrybutorem.

Zalecany sprzęt:
- Cryotop: Zaleca się przechowywanie do 4 oocytów (MII) lub 4 embrionów w 1 Cryotopie.
- ReproPlate: z 6 otworami

❶**Uwaga:** Niniejszy produkt został wysterylizowany. Prosimy pracować z nim w sterylnych warunkach i na czystym stole.

Instrukcje użycia (IFU)
Przygotowanie:
- Wypełnij 90% półki chłodzącej świeżym, płynnym azotem.
- Porównaj szerokość przestrzeni okołożółtkowej z grubością osłony
- Użyj wysterylizowanej mikropipety jako narzędzia do przenoszenia, o odpowiedniej średnicy wewnętrznej dla oocytów lub zarodków. Zalecane średnice wewnętrzne to: 120 μm dla oocytów (MII), 120 μm dla zarodków w stadium przedjądrowym, i od 150 do 180 μm dla zarodków w stadium podziału i 180 do 250 μm dla zarodków w stadium blastocysty

Równoważenie:
❶**Uwaga:** Procedury równoważenia oocytu (MII) i zarodka są różne.

Równoważenie oocytów (MII)
1. Dodaj 20 μl dla BS i 300μl dla VS1 oraz VS2 na płycie Repro Plate za pomocą mikropipety.
2. Przenieś oocyt (MII) z naczynia hodowlanego na DNO BS.
3. Krok 1. Dodaj ES 20 μl delikatnie na WIERZCHOŁKU BS i pozostaw go na 3 minuty.
   Krok 2. Dodaj kolejny ES 20 μl delikatnie na WIERZCHOŁKU BS i pozostaw go na 3 minuty.
   Krok 3. Dodaj kolejny ES 240 μl delikatnie na WIERZCHOŁKU BS i pozostaw go na 9 minut.

Równoważenie embrionów
1. Dodaj 300 μl dla ES, VS1 i VS2 na płycie Repro Plate za pomocą mikropipety.
2. Przenieś embrion na WIERZCH, w środkowej części ES.
3. Zacznie się on spontanicznie kurczyć, a następnie będzie stopniowo powracać do swojego pierwotnego rozmiaru, pochłaniając roztwór ES (w ciągu 15 minut).

Witryfikacja
❶**Uwaga:** Poniższe kroki, od 1 do 9, powinny zostać zrealizowane w ciągu od 60 do 90 sekund.
1. Zassij oocyt (MII) / zarodek z ES za pomocą końcówki mikropipety.
2. Przenieś oocyt (MII) / zarodek na WIERZCHOŁEK, w środkowej części VS1.
3. Zassij oocyt (MII) / zarodek za pomocą mikropipety i zdmuchnij go. Powtórz ten proces 3 razy, zmieniając pozycję w VS1.
4. Przenieś oocyt (MII) / zarodek do VS2.
5. Zmień pozycję oocytu (MII) / zarodka w VS2 za pomocą mikropipety.
6. Umieść oocyt (MII) / zarodek przy czarnej linii na Cryotop.
7. Wykonaj płaską kropelkę.
8. Upewnij się, że oocyt (MII) / zarodek znajduje się na Cryotop o minimalnej objętości VS2 (mniej niż 0.1 μl) pod mikroskopem.
9. Zanurz Cryotop natychmiast w ciekłym azocie.
10. Umieść Cryotop w rurce i trzymaj go w zbiorniku do przechowywania.

Specyfikacje dotyczące kontroli jakości
Poniższe testy zostały przeprowadzone dla każdej partii niniejszego produktu:
- Sterylność zapewniona za pomocą najnowszego testu sterylności USP Sterility Test <71> (Roztwory)
- Endotoksyna za pomocą metody LAL
- Próba na zarodku myszy (OneCell)
- pH (Ph.Eur., USP)
- Osmolalność (Ph.Eur., USP)

Instrukcje dotyczące przechowywania i stabilności
Roztwory: Przechowuj fiolki w temperaturze od 2 do 8 ºC
Niniejszy produkt jest stabilny, aż do upływu daty ważności znajdującej się na fiolce.

Skład
- HEPES w podstawowym podłożu hodowlanym
- Glikol etylenowy
- Dimetylosulfotlenek
- Trehaloza
- Hydroksypropyloceluloza

Przeciwskazania
- Nie sterylizować ponownie.
- Nie używać ponownie.
- Nie używać roztworu, który jest mętny lub pożółkły.
- Nie używać produktu, jeśli zauważysz nieprawidłowości w odniesieniu do specyfikacji na etykiecie (dotyczące liczby, koloru, nazwy, objętości)
- Produkt jest sterylny jeśli opakowanie lub pojemnik nie są otwarte lub uszkodzone. Nie używać, jeśli opakowanie lub pojemnik są otwarte lub uszkodzone.
- Po jego otrzymaniu, produkt należy przechowywać w oryginalnym i zamkniętym pojemniku, w lodówce, w temperaturze od 2 do 8ºC.
- Nie używać i odrzucić jeśli produkt nie był przechowywany w lodówce, w temperaturze (od 2 do 8 ºC).
- Nie używać produktu jeśli minęła data jego przydatności.

Uwaga
- Przed zastosowaniem, zapoznaj się z instrukcjami użycia.
- Użyj środków rozmrażających VT802 do rozmrażania oocytów (MII) lub zarodków zamrożonych za pomocą środka do witryfikacji KITAZATO.
- Niniejszy produkt przeznaczony jest do użycia przez lekarzy specjalistów w leczeniu niepłodności.
- Należy używać aseptycznych technik.
- Należy używać wyłącznie wysterylizowanych urządzeń i materiałów.
- Odkaż pracownię w celu przeprowadzania aseptycznej procedury.
- Przestrzegaj procedur w kontrolowanej przestrzeni.
- Sprawdź poziom płynnego azotu raz na dwa tygodnie
- Użyj wysterylizowanych rękawic, czapki i białego fartucha w celu zapobiegania zanieczyszczeniu
- Użyj czasomierza podczas operacji. Przygotuj zapasowy czasomierz na wypadek wyczerpania baterii
- W przypadku kontaktu oczu lub skóry z środkiem witryfikującym/rozmrażającym, natychmiast przepłucz oko/skórę wodą.
- Morfologicznie nieprawidłowe lub niedobrej jakości oocyty oraz zarodki nie nadają się do kriokonserwacji.
- Czynność musi zostać przeprowadzona przez dwie osoby i sprawdzona dwukrotnie
- Podczas wyrzucania produktu należy przestrzegać wszystkich federalnych, państwowych i lokalnych przepisów dotyczących ochrony środowiska.
- Poproś wykwalifikowanego pracownika o wyrzucenie produktów jako odpadów i niezdatnych do ponownego wykorzystania roztworów.
- Zanieczyszczonych pojemników i opakowań należy pozbywać się w ten sam sposób, jak w przypadku pojemników zawierających produkt.
- W przypadku zakażenia, należy wyrzucić produkt w odpowiedni sposób.
- Użytkownik ponosi odpowiedzialność za wszelkie problemy wynikające z niezgodności z niniejszą Instrukcją użycia.

RU : Назначение
Этот продукт предназначен для витрификации ооцитов (MII) и эмбрионов.

Растворы для Витрификации
- No. 0 (Цветовой код: белый) Базовый раствор(BS): один флакон 1,5 мл (только для витрификации ооцитов)
- No. 1 (Цветовой код: голубой) Равновесный раствор(ES): один флакон 1,5 мл
- No. 2 (Цветовой код: зеленый) Раствор для Витрификации (VS): 2 флакона по 1.5 мл

❶**Внимание:** Перед использованием, проверьте обозначения на флаконе и на этикетке (номер, отмеченный на крышке флакона, цвет крышки, цвет этикетки флакона, название раствора и объем). Если Вы заметили что-то необычное в указанных обозначениях, не используйте продукт и свяжитесь с дистрибьютором.

Рекомендуемые приспособления:
- Cryotop: на 1 Cryotop помещается до 4 Ооцитов (MII) или 4 Эмбрионов.
- Репродуктивная пластина ReproPlate: с 6 лунками

❶**Внимание:** Продукт стерилен.
Пожалуйста, работайте с продуктом в стерильном помещении на чистой поверхности.

Инструкции к применению (IFU)
Подготовка
- Заполните охлаждающее основание свежим жидким азотом на 90%
- Сравните ширину перивителлинового пространства с толщиной прозрачной зоны и запишите показатели.
- Используйте микропипетку с внутренним диаметром, соответствующим диаметру ооцита (MII) или эмбриона. Рекомендуемый внутренний диаметр следующий: 120 мкм для ооцитов (MII), 120 мкм для зигот, 150 – 180 мкм для эмбрионов и 180 – 250 мкм для бластоцист.

Уравновешивание
❶**Внимание:** Процедуры уравновешивания для ооцитов (MII) и эмбрионов отличаются.

Уравновешивание ооцитов (MII)
1. Поместите 20 мкл BS и по 300 мкл VS1и VS2 на репродуктивную пластину Repro Plate с помощью микропипетки.
2. Перенесите ооцит (MII) из чашки для культивирования на ДНО BS.
3. Шаг 1. Аккуратно добавьте 20 мкл ES на ПОВЕРХНОСТЬ BS и оставьте на три минуты.
   Шаг 2. Аккуратно добавьте еще 20 мкл ES на ПОВЕРХНОСТЬ BS и оставьте на три минуты.
   Шаг 3. Аккуратно добавьте еще 240 мкл ES на ПОВЕРХНОСТЬ BS и оставьте на девять минут.

Уравновешивание эмбрионов
1. Поместите 300 мкл ES, VS1 и VS2 на репродуктивную пластину Repro Plate с помощью микропипетки.
2. Перенесите эмбрион в центр на ПОВЕРХНОСТЬ ES.
3. Он начинает сжиматься, а затем постепенно возвращается к исходному размеру благодаря впитыванию ES (в течение 15 минут).

Витрификация
❶**Внимание:** Следующие шаги с 1 по 9 необходимо выполнить за 60-90 секунд.
1. Аспирируйте ооцит (MII) /эмбрион из равновесного раствора ES на кончик пастеровской пипетки
2. Перенесите ооцит (MII) /эмбрион в центр на ПОВЕРХНОСТЬ VS1
3. Аспирируйте ооцит (MII) / эмбрион микропипеткой и выдуйте его. Повторите эту процедуру 3 раза, меняя позицию в VS1.
4. Перенесите Ооцит (MII) / эмбрион в VS2.
5. С помощью микропипетки поменяйте позицию ооцита (MII) / эмбриона в VS2.
6. Поместите ооцит (MII) / эмбрион возле черной отметки на Cryotop.
7. Сделайте плоскую каплю.
8. С помощью микроскопа убедитесь, что Ооцит (MII) / эмбрион находится на носителе Cryotop с минимальным количеством VS2 (менее 0.1 мкл).
9. Быстро окуните Cryotop в житкий азот.
10. Наденьте внешнюю канулю на Cryotop и перенесите в резервуар для хранения, всегда погруженным в жидкий азот.

Контроль качества
Каждый лот растворов для витрификации проходит следующие проверки:
- Проверка стерильности с помощью актуального теста USP <71> (Растворы)
- Проверка на эндотоксины с помощью метода лизата амёбоцитов
- Limulus
- Проверка мышиным эмбрионом (одна клетка) – MEA Test
- Тестирование pH (Ph.Eur., USP)
- Тестирование осмолярности (Ph.Eur., USP)

Условия хранения и стабильность
Растворы: Хранить ампулы при температуре 2-8°C
Этот продукт может храниться до даты, указанной на этикетке флакона.

Состав
- HEPES в составке базовой среды для культивирования
- Этилен Гликоль
- Диметилсульфоксид
- Трегалозы
- Гидроксипропилцеллюлоза

Осторожно
- Не стерилизовать повторно.
- Не использовать повторно.
- Не использовать помутневший или пожелтевший раствор.
- Не использовать продукт, если Вы заметили что-то необычное в обозначениях на этикетке (номер, цвет, название, объем)
- Стерильно, если упаковка не вскрыта или не повреждена. Не использовать в случае нарушения целостности упаковки
- После доставки хранить растворы в холодильнике в оригинальной закрытой упаковке при температуре 2-8 °C.
- Не используйте среды, которые не хранились охлажденными (2 to 8 ºC).
- Не используйте продукт с истекшим сроком годности.

Меры предосторожности
- Прочитайте инструкции по применению перед использованием.
- Используйте среды для размораживания VT802 для разморозки ооцитов (MII) или эмбрионов, замороженных с растворами для витрификации KITAZATO.
- Данный продукт предназначен для использования только специалистами репродуктивной медицины.
- Применяйте асептические методы.
- Используйте только стерилизованное оборудование и материалы.
- Проведите обеззараживание рабочего помещения для асептических процедур.
- Выполняйте процедуры в помещении с климат-контролем.
- Проверяйте уровень житкого азота каждые две недели.
- Надевайте стерильные перчатки, шапочку, халат для избежания заражения.
- Используйте таймер при процедуре. Подготовьте еще один таймер на случай, если первый выйдет из строя.
- В случае попадания Растворов для Витрификации и Разморозки в глаза или на кожу, сразу промыть водой глаза и кожу.
- Ооциты (MII)/эмбрионы с аномальной морфологией или существенно низкого качества не подходят для криопрезервации.
- Процедура должна проводиться двумя людьми для двойного контроля.
- Соблюдайте все экологические нормы федерального, регионального и местного значения при утилизации продукта.
- Наймите квалифицированного подрядчика по утилизации продукта как остаточных и не используемых повторно растворов.
- Утилизируйте загрязненные флаконы и упаковку также, как рекомендовано для продукта внутри.
- В случае заражения, утилизируйте продукт описанным надлежащим образом.
- Пользователь несет ответственность за любые проблемы, вызванные несоответствием настоящим инструкциям по применению.

ES : Uso previsto
Este producto sirve para vitrificar ovocitos (MII) y embriones.

Medios de Vitrificación
- Nº 0. (Código de color: blanco) Solución Básica (BS): 1 vial x 1,5 ml (Sólo para la Vitrificación de Ovocitos (MII).
- Nº 1. (Código de color: azul) Solución de Equilibrado (ES): 1 vial x 1,5 ml
- Nº 2. (Código de color: verde) Solución de Vitrificación (VS): 2 viales x 1,5 ml

❶**Precaución:** Antes de usar, verificar las especificaciones del envase y el etiquetado (número marcado en la parte superior de la tapa, color de la tapa, color del etiquetado del vial, nombre de la solución y volumen). Si nota algo inusual en relación con los elementos mencionados anteriormente, no utilice el producto y póngase en contacto con el distribuidor.

Equipamiento recomendado
- Cryotop: 1 Cryotop puede almacenar hasta 4 Ovocitos (MII) o 4 Embriones, de acuerdo con la recomendación
- Repro plates con 6 pocillos

❶**Precaución:** Este producto es estéril y se debe manejar en un área estéril sobre una superficie limpia.

Instrucciones de uso
Preparación
- Llenar hasta un 90% del cooling rack con nitrógeno líquido para su refrigeración.
- Comparar el ancho del espacio perivitelino con el grosor de la zona pelúcida y anotar dicho dato.
- Utilizar una micropipeta esterilizada como herramienta de manipulación, con un diámetro interno adecuado para los ovocitos (MII) o embriones. Los diámetros internos recomendados son los siguientes: 120 μm para los ovocitos (MII), 120 μ m para los embriones en estadio de pronúcleo, 150 a 180 μm para los embriones en estadio temprano de desarrollo y 180 a 250 μm para los blastocistos.

Equilibrado
❶**¡ATENCIÓN!:** los procedimientos de equilibrado para los ovocitos (MII) y los embriones son diferentes.

Equilibrado de los ovocitos (MII)
1. Dejar caer en forma de gota 20 μl de BS y 300 μl tanto de VS1 como de VS2 en el Repro Plate utilizando para ello una micropipeta.
2. Trasladar el ovocito (MII) de la placa de cultivo al FONDO de la BS.
3. Paso 1. Añadir suavemente 20 μl de ES a la PARTE SUPERIOR de la BS y dejar reposar 3 minutos.
   Paso 2. Añadir suavemente 20 μl de ES a la PARTE SUPERIOR de BS y dejar reposar 3 minutos.
   Paso 3. Añadir suavemente 240 μl de ES a la PARTE SUPERIOR de BS y dejar reposar 9 minutos.

Equilibrado de los embriones
1. Dejar caer en forma de gota 300 μl de ES, de VS1 y de VS2 en el Repro Plate utilizando para ello una micropipeta.
2. Trasladar el embrión a la PARTE SUPERIOR central de ES.
3. El embrión, espontáneamente, comenzará a encogerse y, después, gradualmente (en 15 minutos), volverá a recuperar su tamaño original gracias a la infiltración de ES.

Vitrificación
❶**¡ATENCIÓN!:** los siguientes pasos del 1 al 9 deberían completarse en un periodo de tiempo entre 60 y 90 segundos.
1. Aspirar el ovocito (MII) / embrión de ES con la punta de la micropipeta.
2. Trasladar el ovocito (MII) /embrión a la parte SUPERIOR central de VS1.
3. Aspirar el ovocito (MII) / embrión con una micropipeta y expulsarlo fuera. Repetir esta operación 3 veces cambiando la posición en la VS1.
4. Trasladar el ovocito (MII) /embrión a VS2.
5. Cambiar la posición del ovocito (MII) /embrión en el pocillo de VS2 utilizando para ello una micropipeta.
6. Colocar el ovocito (MII) / embrión cerca de la parte negra de la lámina del Cryotop.
7. Realizar una gota plana.
8. Comprobar con el microscopio que el ovocito (MII) / embrión en el Cryotop presenta un volumen mínimo de VS2 (menos de 0,1 μl)
9. Sumergir el Cryotop inmediatamente en nitrógeno liquido.
10. Colocar el Cryotop dentro de la pajuela externa y guardarlo en el tanque de almacenamiento.

Pruebas de control de calidad
Se han realizado las siguientes pruebas para cada lote de este producto:
- Control de la esterilización mediante la actual prueba de esterilidad USP <71> (Soluciones).
- Detección de endotoxinas mediante la metodología LAL.
- Ensayo con embrión de ratón (una célula)- MEA Test.
- Test de pH (Ph.Eur., USP)
- Test de Osmoladridad (Ph.Eur., USP)

Instrucciones de almacenamiento y esterilidad
Soluciones: almacenar los viales a 2 - 8 ºC
Este producto es estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial.

Composición
- Medio base tamponado con HEPES
- Etilen Glicol
- Dimetil Sulfóxido
- Trehalosa
- Hidroxipropilcelulosa

Advertencias
- No volver a esterilizar.
- No reutilizar.
- No utilizar una solución que esté turbia o amarillenta.
- No utilizar el producto si se muestra algo inusual en relación con las especificaciones de la etiqueta (número, color, nombre, volumen)
- El producto se mantendrá estéril si el envase no está abierto o dañado. No lo use si el envase está abierto o dañado.
- Tras la entrega los medios se deben almacenar en sus recipientes originales, sin abrir y refrigerados a 2-8 °C.
- No utilizar y descartar, si los medios no han sido almacenados refrigerados (2 to 8 ºC).
- No utilizar el producto, si ha pasado su fecha de caducidad.

Precauciones
- Leer las instrucciones de uso antes de utilizar.
- Utilizar los medios de desvitrificación VT802 para descongelar ovocitos (MII) o embriones vitrificados con los medios de vitrificación de KITAZATO.
- Este producto está diseñado para su uso por parte de personal médico especializado en tratamientos de fertilidad.
- Se deberán usar técnicas asépticas.
- Usar solo equipo y materiales esterilizados.
- Descontaminar el área de trabajo para procedimientos asépticos.
- Realizar los procedimientos en una sala con atmósfera controlada.
- Comprobar el nivel de nitrógeno líquido cada dos semanas.
- Utilizar guantes, gorro y bata para evitar contaminación.
- Utilizar cronómetro durante el procedimiento. Preparar otro cronómetro por si el primero se estropee.
- En caso de que el Medio de Vitrificación o Desvitrificación entre en contacto con ojos o piel, inmediatamente lavar ojos/piel con agua.
- Los ovocitos y embriones que representen anomalías morfológicas o de calidad significativamente subóptima no son adecuados para criopreservación.
- El procedimiento tiene que ser realizado por dos personas para doble chequeo.
- Seguir todas las normas medioambientales a nivel federal, estatal y local a la hora de descartar el producto.
- Trabajar con un contratista de eliminación de residuos calificado de desechar los productos como soluciones residuales y no reutilizables.
- Desechar los contenedores y el empaquetado contaminados igual que está indicado para contenedores con producto dentro.
- En caso de infección, desechar el producto adecuadamente acorde a las indicaciones.
- El usuario es responsable de todos los problemas causados por la non-conformidad a las actuales Instrucciones de Uso.

KITAZATO®

Kitazato Corporation Shizuoka Office
81 Nakajima, Fuji, Shizuoka 416-0907 Japan TEL: +81-545-66-2202 FAX: +81-545-60-5772

EC REP Dibimed-Biomedical Supply, S.L.
C/Luis Buñuel, 1–Oficinas Puerta 4, 46015 Valencia, Spain TEL: +34-963-056-395 / FAX: +34-963-056-396

Copyright © Kitazato Corporation All Rights Reserved.