

## English



## SAGE™ Vitrification Kit

For laboratory procedures only other uses must be qualified by the end user.

REF	Number	Unit Size
Equilibration Solution	ART-8025-A	1 x 2 mL
Vitrification Solution	ART-8025-B	1 x 2 mL

## INTENDED USE

These products are intended for the ultra-rapid freezing and containment of human embryos (pronuclear zygotes through day 3 cleavage stage embryos and blastocyst stage embryos) in ART procedures. This kit is designed to be used in conjunction with the SAGE™ Vitrification Warming Kit (ART-8030) for warming and recovery of specimens.

## PRODUCT DESCRIPTION

Equilibration Solution (ART-8025-A) is a MOPS buffered solution of modified HTF containing non-essential and essential amino acids, gentamicin sulfate (10 mg/L), 7.5% (w/v) each of DMSO and ethylene glycol and 12 mg/mL human serum albumin.

Vitrification Solution (ART-8025-B) is a MOPS buffered solution of modified HTF containing non-essential and essential amino acids, gentamicin sulfate (10 mg/L), 15% (w/v) each of DMSO and ethylene glycol, 12 mg/mL human serum albumin and 0.6 M gentamicin.

This product contains 10 mg/mL of gentamicin, an aminoglycoside antibiotic.

## MATERIALS PROVIDED IN THE VITRIFICATION KIT

1 x 2 mL vial of Equilibration Solution (REF # ART-8025-A)  
1 x 2 mL vial of Vitrification Solution (REF # ART-8025-B)

## PRECAUTIONS AND WARNINGS

Warning: The long term safety of embryos(s) vitrified in ART procedures. This kit is designed to be used in conjunction with the SAGE™ Vitrification Warming Kit (ART-8030) for warming and recovery of specimens.

**Caution:** The safety and effectiveness of vitrification has not been fully evaluated in human embryos that have not yet reached the blastocyst stage of development. To date, live births have been reported from cleavage-stage embryos vitrified on day 3 of development (Desai et al., 2007) and clinical pregnancies have been demonstrated from vitrified zygotes (Selman & El-Dansoury, 2002).

**Caution:** The user should read and understand the Directions for Use, Precautions and Warnings, and be trained in the correct procedure before using the Vitrification and Vitrification Warming Kits for vitrification of human embryos.

**Caution:** Use a legally marketed storage device indicated for use in embryos vitrification procedures. Use a closed storage system to prevent the potential risk of viral contamination and do not use open storage systems where the sample comes in direct contact with liquid nitrogen. The rate of cooling in the storage device should be between -1,800 to 20,000 °C/min (Camus et al., 2006).

The Equilibration Solution (ART-8025-A) component in this kit contains 12 mg/mL human serum albumin.

The Vitrification Solution (ART-8025-B) component in this kit contains 12 mg/mL human serum albumin.

**Caution:** All blood products should be treated as potentially infectious. Source material from which this product was derived was found negative when testing for antibodies to HIV-1/HIV-2, HCV and non-reactive for hepatitis C (CJD). Based on effective donor screening and product manufacturing processes, it carries an extremely remote risk for transmission of viral diseases. A theoretical risk of subsequent procedure if CJD is also considered extremely remote. No cases of transmission of viral diseases or CJD have ever been identified for albumin.

Handle all human source material as if it is capable of transmitting infection, using universal 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 newly discovered viruses and other pathogens. There are no reports of proven virus transmissions with human blood or plasma introduced to European Pharmacopoeia specifications by established processes.

**Single use:** To avoid problems with contamination, handle using aseptic techniques and discard any excess product that remains in the bottle or vial after procedure is complete.

The Equilibration Solution (ART-8025-A) component in this kit contains 12 mg/mL human serum albumin.

The Vitrification Solution (ART-8025-B) component in this kit contains 12 mg/mL human serum albumin.

Refrigerated medicine products are intended for single use only. Re-use of reproductive media and glass pipettes may result in suboptimal conditions to promote fertilization and/or embryo quality during in-vitro culture. These conditions may result in the failure of the embryo to develop properly or to implant, potentially leading to a failed assisted reproductive procedure.

**Note:** Embryo is considered a general term. More precisely, SAGE™ considers the period of time including when a single diploid cell results from the fusion of male and female genome resulting in zygote formation with subsequent development from repeated mitotic divisions forming a solid mass or morula (typically day 4-5) and after which a fluid-filled cavity develops resulting in blastocyst formation (typically day 5-6) ending with embryo implantation that begins the end of the first week and is completed by the end of the second week post conception.

**Caution:** U.S. Federal law restricts this device to sale by or on the order of a physician or a non-physician trained in its use.

This product contains the antibiotic gentamicin sulfate. Appropriate precautions should be taken to ensure that the patient is not sensitized to this antibiotic.

**QUALITY ASSURANCE**  
The solutions in this kit are membrane filtered and aseptically processed according to cGMP procedures which have been validated to meet a sterility assurance level (SAL) of 10<sup>-6</sup>.

One-cell MEA tested and passed with 80% or greater blastocyst. USP Endotoxin tested and passed with <1 EU/mL.

A Certificate of Analysis is available for this product.

## MATERIALS REQUIRED BUT NOT INCLUDED

- Sterile Petri Dishes (50 x 9 mm, Falcon 351006 or equivalent) or 4-well multi-culture dishes (1 mL wells, Nunclon 178740 or equivalent)
- Cryotubes or goblets or cryocaps
- Disposable gloves
- Transfer pipettes (pulled glass pipettes or micro-pipette tips with an inner tip diameter of ~ 200 µm)
- Tweezers
- Timer or stopwatch
- Liquid Nitrogen Reservoir (Dewar or Styrofoam container with lid, 1-2 L volume)
- Liquid Nitrogen (sufficient volume to achieve 6 inch depth in reservoir)

## DIRECTIONS FOR USE

The SAGE™ Vitrification Kit components required for one embryo vitrification procedure (maximum of 2 embryos per procedure) are as follows:

Equilibration Solution (ES): 20 µL to 1 mL  
Vitrification Solution (VS): 80 µL to 1 mL

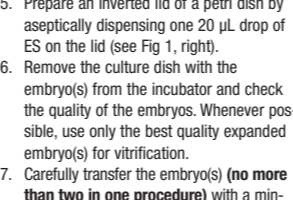
Refer to the specific instructions pertaining to the carrier and containment device being used.

**VITRIFICATION PROTOCOL:**  
The vitrification procedure is to be performed at room temperature (20-25 °C). Do not use a heated microscope stage for the following procedures. Minimize exposure of specimens to light during incubation in Equilibration and Vitrification Solutions. Bring the solutions to room temperature before use.

## A. Procedure using micro-drop volumes of solutions

1. Fill the liquid nitrogen reservoir with liquid nitrogen to a sufficient depth to submerge a cryotube or goblet on a cryocane and place near to microscope. Attach a cryotube or goblet to the bottom of the cryocane and submerge in the liquid nitrogen in preparation for storage of the vitrified specimens.
2. Determine the number of embryos to be vitrified.
3. Label each sterile petri dish and carrier/storage device to be used with necessary information.
4. Make sure the contents of each vial of ES and VS Solutions are well mixed by gentle inversion several times before use.
5. Prepare an inverted lid of a petri dish by aseptically dispensing one 20 µL drop of ES on the lid (see Fig. 1, right).
6. Remove the culture dish with the embryo(s) from the incubator and check the quality of the embryos. Whenever possible, use only the best quality expanded embryos for vitrification.
7. Carefully transfer the embryo(s) (no more than two in one procedure) with a minimal volume of culture medium to the top of the drop of ES and start the timer. Allow the embryo(s) to equilibrate in the ES drop during free-fall for 5 to 15 minutes. The embryo(s) will shrink and then gradually re-expand to its original size, indicating that equilibration is complete.
8. Make sure the contents of each vial of ES and VS Solutions are well mixed by gentle inversion several times before use.
9. Prepare a multichannel pipette by aseptically dispensing 1 mL of VS into Well 1 and 1 mL of VS into Well 2 (see Fig. 2, below).
10. For the vitrification procedure, follow the instructions that accompany carrier device to be used. Carefully transfer the blastocyst(s) in < 1 µL of VS solution into the vitrification device to be used and proceed as instructed using the Directions for Use that accompany the carrier device being used.

## Fig. 1



REF: ES = Equilibration Solution  
VS = Vitrification Solution  
T = transfer embryo to next well  
C = Center of drop (Center of drop)  
B = Bottom of drop

15. If more embryo(s) are to be vitrified, repeat steps 4 through 14 above, using fresh drops of ES and VS.

## Reminder: The amount of time spent first placing the embryo(s) in the VS solution (VS1) and immersion into liquid nitrogen

should not exceed the time you have determined to be optimal for this procedure and certainly should not be more than 110 seconds (see #9 above).

1. Quickly transfer the embryo(s) from the first drop of VS to the center of the second drop of VS (VS2) for 5 seconds.
12. Next, transfer the embryo(s) from VS2 to the center of the third drop of VS (VS3) to 10 seconds.
13. Finally, transfer the embryo(s) from VS3 to the bottom of the fourth drop of VS (VS4).
14. For the vitrification procedure, follow the instructions that accompany the carrier device to be used. Carefully transfer the embryo(s) in < 1 µL of VS solution from drop VS4 into the vitrification device to be used and proceed as instructed using the Directions for Use that accompany the carrier device being used.

## B. Procedure using larger volumes of solution in 4-well multichannel

**Note:** Caution must be taken to avoid any contamination (e.g. microbial, patient, etc.) when using 4-well plates.

1. Fill the liquid nitrogen reservoir with liquid nitrogen to a sufficient depth to submerge a cryotube or goblet on a cryocane and place near to microscope. Attach a cryotube or goblet to the bottom of the cryocane and submerge in the liquid nitrogen in preparation for storage of the vitrified specimens.
2. Determine the number of embryos to be vitrified.
3. Label each multichannel and carrier/storage device to be used with necessary information.
4. Make sure the contents of each vial of ES and VS Solutions are well mixed by gentle inversion several times before use.
5. Prepare a multichannel pipette by aseptically dispensing 1 mL of VS into Well 1 and 1 mL of VS into Well 2 (see Fig. 2, below).
6. Remove the culture dish with the embryo(s) from the incubator and check the quality of the embryos. Whenever possible, use only the best quality expanded embryo for vitrification.

7. Determine the number of embryos to be vitrified.
8. Make sure the contents of each vial of ES and VS Solutions are well mixed by gentle inversion several times before use.
9. Prepare an inverted lid of a petri dish by aseptically dispensing one 20 µL drop of ES on the lid (see Fig. 1, right).
10. Remove the culture dish with the embryo(s) from the incubator and check the quality of the embryos. Whenever possible, use only the best quality expanded embryo for vitrification.
11. Transfer rapidly the embryo(s) to the first drop of VS (VS1) and immerse into liquid nitrogen for 5 seconds.
12. Transfer the embryo(s) to the second drop of VS (VS2) for 5 seconds.
13. Transfer the embryo(s) to the third drop of VS (VS3) for 10 seconds.
14. Transfer the embryo(s) to the bottom of the fourth drop of VS (VS4).

15. If more embryo(s) are to be vitrified, repeat steps 4 through 14 above, using fresh drops of ES and VS.

16. Remove the culture dish with the embryo(s) from the incubator and check the quality of the embryos. Whenever possible, use only the best quality expanded embryo for vitrification.

17. Prepare a multichannel pipette by aseptically dispensing 1 mL of VS into Well 1 and 1 mL of VS into Well 2 (see Fig. 2, below).

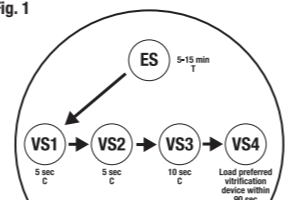
18. For the vitrification procedure, follow the instructions that accompany carrier device to be used. Carefully transfer the blastocyst(s) in < 1 µL of VS solution into the vitrification device to be used and proceed as instructed using the Directions for Use that accompany the carrier device being used.

19. Prepare a multichannel pipette by aseptically dispensing 1 mL of VS into Well 1 and 1 mL of VS into Well 2 (see Fig. 2, below).

20. For the vitrification procedure, follow the instructions that accompany carrier device to be used. Carefully transfer the blastocyst(s) in < 1 µL of VS solution into the vitrification device to be used and proceed as instructed using the Directions for Use that accompany the carrier device being used.

21. Quickly transfer the embryo(s) from the first drop of VS to the center of the second drop of VS (VS2) for 5 seconds.
22. Next, transfer the embryo(s) from VS2 to the center of the third drop of VS (VS3) to 10 seconds.
23. Finally, transfer the embryo(s) from VS3 to the bottom of the fourth drop of VS (VS4).
24. For the vitrification procedure, follow the instructions that accompany the carrier device to be used. Carefully transfer the embryo(s) in < 1 µL of VS solution from drop VS4 into the vitrification device to be used and proceed as instructed using the Directions for Use that accompany the carrier device being used.

## Fig. 1



REF: ES = Equilibration Solution  
VS = Vitrification Solution  
T = transfer embryo to next well  
C = Center of drop (Center of drop)  
B = Bottom of drop

15. If more embryo(s) are to be vitrified, repeat steps 4 through 14 above, using fresh drops of ES and VS.

## Reminder: The amount of time spent first placing the embryo(s) in the VS solution (VS1) and immersion into liquid nitrogen

should not exceed the time you have determined to be optimal for this procedure and certainly should not be more than 110 seconds (see #9 above).

1. Quickly transfer the embryo(s) from the first drop of VS to the center of the second drop of VS (VS2) for 5 seconds.
12. Next, transfer the embryo(s) from VS2 to the center of the third drop of VS (VS3) to 10 seconds.
13. Finally, transfer the embryo(s) from VS3 to the bottom of the fourth drop of VS (VS4).
14. For the vitrification procedure, follow the instructions that accompany the carrier device to be used. Carefully transfer the embryo(s) in < 1 µL of VS solution from drop VS4 into the vitrification device to be used and proceed as instructed using the Directions for Use that accompany the carrier device being used.

## B. Procedure using larger volumes of solution in 4-well multichannel

**Note:** Caution must be taken to avoid any contamination (e.g. microbial, patient, etc.) when using 4-well plates.

1. Fill the liquid nitrogen reservoir with liquid nitrogen to a sufficient depth to submerge a cryotube or goblet on a cryocane and place near to microscope. Attach a cryotube or goblet to the bottom of the cryocane and submerge in the liquid nitrogen in preparation for storage of the vitrified specimens.
2. Determine the number of embryos to be vitrified.
3. Label each multichannel and carrier/storage device to be used with necessary information.
4. Make sure the contents of each vial of ES and VS Solutions are well mixed by gentle inversion several times before use.
5. Prepare a multichannel pipette by aseptically dispensing 1 mL of VS into Well 1 and 1 mL of VS into Well 2 (see Fig. 2, below).
6. Remove the culture dish with the embryo(s) from the incubator and check the quality of the embryos. Whenever possible, use only the best quality expanded embryo for vitrification.

7. Determine the number of embryos to be vitrified.
- 8. Make sure the contents of each vial of ES and VS Solutions are well mixed by gentle inversion several times before use.
- 9. Prepare an inverted lid of a petri dish by aseptically dispensing one 20 µL drop of ES on the lid (see Fig. 1, right).
- 10. Remove the culture dish with the embryo(s) from the incubator and check the quality of the embryos. Whenever possible, use only the best quality expanded embryo for vitrification.
- 11. Transfer rapidly the embryo(s) to the first drop of VS (VS1) and immerse into liquid nitrogen for 5 seconds.
- 12. Transfer the embryo(s) to the second drop of VS (VS2) for 5 seconds.
- 13. Transfer the embryo(s) to the third drop of VS (VS3) for 10 seconds.
- 14. Transfer the embryo(s) to the bottom of the fourth drop of VS (VS4).

15. If more embryo(s) are to be vitrified, repeat steps 4 through 14 above, using fresh drops of ES and VS.

16. Remove the culture dish with the embryo(s) from the incubator and check the quality of the embryos. Whenever possible, use only the best quality expanded embryo for vitrification.

17. Prepare a multichannel pipette by aseptically dispensing 1 mL of VS into Well 1 and 1 mL of VS into Well 2 (see Fig. 2, below).

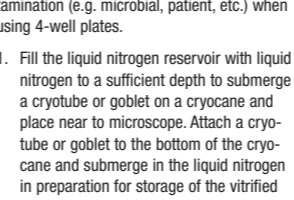
18. For the vitrification procedure, follow the instructions that accompany carrier device to be used. Carefully transfer the blastocyst(s) in < 1 µL of VS solution into the vitrification device to be used and proceed as instructed using the Directions for Use that accompany the carrier device being used.

19. Prepare a multichannel pipette by aseptically dispensing 1 mL of VS into Well 1 and 1 mL of VS into Well 2 (see Fig. 2, below).

20. For the vitrification procedure, follow the instructions that accompany carrier device to be used. Carefully transfer the blastocyst(s) in < 1 µL of VS solution into the vitrification device to be used and proceed as instructed using the Directions for Use that accompany the carrier device being used.

21. Quickly transfer the embryo(s) from the first drop of VS to the center of the second drop of VS (VS2) for 5 seconds.
22. Next, transfer the embryo(s) from VS2 to the center of the third drop of VS (VS3) to 10 seconds.
23. Finally, transfer the embryo(s) from VS3 to the bottom of the fourth drop of VS (VS4).
24. For the vitrification procedure, follow the instructions that accompany the carrier device to be used. Carefully transfer the embryo(s) in < 1 µL of VS solution from drop VS4 into the vitrification device to be used and proceed as instructed using the Directions for Use that accompany the carrier device being used.

## Fig. 1



REF: ES = Equilibration Solution  
VS = Vitrification Solution  
T = transfer embryo to next well  
C = Center of drop (Center of drop)  
B = Bottom of drop

15. If more embryo(s) are to be vitrified, repeat steps 4 through 14 above, using fresh drops of ES and VS.

## Reminder: The amount of time spent first placing the embryo(s) in the VS solution (VS1) and immersion into liquid nitrogen

should not exceed the time you have determined to be optimal for this procedure and certainly should not be more than 110 seconds (see #9 above).

1. Quickly transfer the embryo(s) from the first drop of VS to the center of the second drop of VS (VS2) for 5 seconds.
12. Next, transfer the embryo(s) from VS2 to the center of the third drop of VS (VS3) to 10 seconds.
13. Finally, transfer the embryo(s) from VS3 to the bottom of the fourth drop of VS (VS4).
14. For the vitrification procedure, follow the instructions that accompany the carrier device to be used. Carefully transfer the embryo(s) in < 1 µL of VS solution from drop VS4 into the vitrification device to be used and proceed as instructed using the Directions for Use that accompany the carrier device being used.

## B. Procedure using larger volumes of solution in 4-well multichannel

**Note:** Caution must be taken to avoid any contamination (e.g. microbial, patient, etc.) when using 4-well plates.

1. Fill the liquid nitrogen reservoir with liquid nitrogen to a sufficient depth to submerge a cryotube or goblet on a cryocane and place near to microscope. Attach a cryotube or goblet to the bottom of the cryocane and submerge in the liquid nitrogen in preparation for storage of the vitrified specimens.
2. Determine the number of embryos to be vitrified.
3. Label each multichannel and carrier/storage device to be used with necessary information.
4. Make sure the contents of each vial of ES and VS Solutions are well mixed by gentle inversion several times before use.
5. Prepare a multichannel pipette by aseptically dispensing 1 mL of VS into Well 1 and 1 mL of VS into Well 2 (see Fig. 2, below).
6. Remove the culture dish with the embryo(s) from the incubator and check the quality of the embryos. Whenever possible, use only the best quality expanded embryo for vitrification.

7. Determine the number of embryos to be vitrified.
- 8. Make sure the contents of each vial of ES and VS Solutions are well mixed by gentle inversion several times before use.
- 9. Prepare an inverted lid of a petri dish by aseptically dispensing one 20 µL drop of ES on the lid (see Fig. 1, right).
- 10. Remove the culture dish with the embryo(s) from the incubator and check the quality of the embryos. Whenever possible, use only the best quality expanded embryo for vitrification.
- 11. Transfer rapidly the embryo(s) to the first drop of VS (VS1) and immerse into liquid nitrogen for 5 seconds.
- 12. Transfer the embryo(s) to the second drop of VS (VS2) for 5 seconds.
- 13. Transfer the embryo(s) to the third drop of VS (VS3) for 10 seconds.
- 14. Transfer the embryo(s) to the bottom of the fourth drop of VS (VS4).

15. If more embryo(s) are to be vitrified, repeat steps 4 through 14 above, using fresh drops of ES and VS.

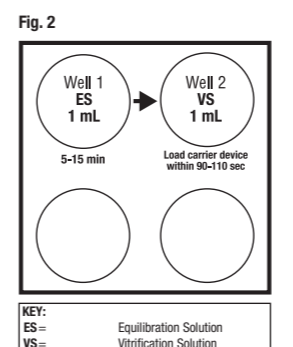
16. Remove the culture dish with the embryo(s) from the incubator and check the quality of the embryos. Whenever possible, use only the best quality expanded embryo for vitrification.

17. Prepare a multichannel pipette by aseptically dispensing 1 mL of VS into Well 1 and 1 mL of VS into Well 2 (see Fig. 2, below).

18. For the vitrification procedure, follow the instructions that accompany carrier device to be used. Carefully transfer the blastocyst(s) in < 1 µL of VS solution into the vitrification device to be used and proceed as instructed using the Directions for Use that accompany the carrier device being used.

19. Prepare a multichannel pipette by aseptically dispensing 1 mL of VS into Well 1 and 1 mL of VS into Well 2 (see Fig. 2, below).

20. For the vitrification procedure, follow the instructions that accompany carrier device to be used. Carefully transfer the blastocyst(s) in < 1 µL of VS solution into the vitrification device to be used and proceed as instructed using the Directions for Use that accompany the carrier device being used.



EXPLANATION:  
ES = Equilibration Solution  
VS = Vitrification Solution  
T = transfer embryo to next well

15. If more embryo(s) are to be vitrified, repeat steps 4 through 14 above, using fresh drops of ES and VS.

Reminder: The amount of time spent first placing the embryo(s) in the VS solution (VS1) and immersion into liquid nitrogen

should not exceed the time you have determined to be optimal for this procedure and certainly should not be more than 110 seconds (see #9 above).

1. Quickly transfer the embryo(s) from the first drop of VS to the center of the second drop of VS (VS2) for 5 seconds.
12. Next, transfer the embryo(s) from VS2 to the center of the third drop of VS (VS3) to 10 seconds.
13. Finally, transfer the embryo(s) from VS3 to the bottom of the fourth drop of VS (VS4).
14. For the vitrification procedure, follow the instructions that accompany the carrier device to be used. Carefully transfer the embryo(s) in < 1 µL of VS solution from drop VS4 into the vitrification device to be used and proceed as instructed using the Directions for Use that accompany the carrier device being used.

## B. Procedure using larger volumes of solution in 4-well multichannel

**Note:** Caution must be taken to avoid any contamination (e.g. microbial, patient, etc.) when using 4-well plates.

1. Fill the liquid nitrogen reservoir with liquid nitrogen to a sufficient depth to submerge a cryotube or goblet on a cryocane and place near to microscope. Attach a cryotube or goblet to the bottom of the cryocane and submerge in the liquid nitrogen in preparation for storage of the vitrified specimens.
2. Determine the number of embryos to be vitrified.
3. Label each multichannel and carrier/storage device to be used with necessary information.
4. Make sure the contents of each vial of ES and VS Solutions are well mixed by gentle inversion several times before use.
5. Prepare a multichannel pipette by aseptically dispensing 1 mL of VS into Well 1 and 1 mL of VS into Well 2 (see Fig. 2, below).
6. Remove the culture dish with the embryo(s) from the incubator and check the quality of the embryos. Whenever possible, use only the best quality expanded embryo for vitrification.

7. Determine the number of embryos to be vitrified.
- 8. Make sure the contents of each vial of ES and VS Solutions are well mixed by gentle inversion several times before use.
- 9. Prepare an inverted lid of a petri dish by aseptically dispensing one 20 µL drop of ES on the lid (see Fig. 1, right).
- 10. Remove the culture dish with the embryo(s) from the incubator and check the quality of the embryos. Whenever possible, use only the best quality expanded embryo for vitrification.
- 11. Transfer rapidly the embryo(s) to the first drop of VS (VS1) and immerse into liquid nitrogen for 5 seconds.
- 12. Transfer the embryo(s) to the second drop of VS (VS2) for 5 seconds.
- 13. Transfer the embryo(s) to the third drop of VS (VS3) for 10 seconds.
- 14. Transfer the embryo(s) to the bottom of the fourth drop of VS (VS4).

15. If more embryo(s) are to be vitrified, repeat steps 4 through 14 above, using fresh drops of ES and VS.

16. Remove the culture dish with the embryo(s) from the incubator and check the quality of the embryos. Whenever possible, use only the best quality expanded embryo for vitrification.

17. Prepare a multichannel pipette by aseptically dispensing 1 mL of VS into Well 1 and 1 mL of VS into Well 2 (see Fig. 2, below).

18. For the vitrification procedure, follow the instructions that accompany carrier device to be used. Carefully transfer the blastocyst(s) in < 1 µL of VS solution into the vitrification device to be used and proceed as instructed using the Directions for Use that accompany the carrier device being used.

19. Prepare a multichannel pipette by aseptically dispensing 1 mL of VS into Well 1 and 1 mL of VS into Well 2 (see Fig. 2, below).

20. For the vitrification procedure, follow the instructions that accompany carrier device to be used. Carefully transfer the blastocyst(s) in < 1 µL of VS solution into the vitrification device to be used and proceed as instructed using the Directions for Use that accompany the carrier device being used.

21. Quickly transfer the embryo(s) from the first drop of VS to the center of the second drop of VS (VS2) for 5 seconds.

22. Next, transfer the embryo(s) from VS2 to the center of the third drop of VS (VS3) to 10 seconds.

23. Finally, transfer the embryo(s) from VS3 to the bottom of the fourth drop of VS (VS4).

24. For the vitrification procedure, follow the instructions that accompany the carrier device to be used. Carefully transfer the embryo(s) in < 1 µL of VS solution from drop VS4 into the vitrification device to be used and proceed as instructed using the Directions for Use that accompany the carrier device being used.

1. Quickly transfer the embryo(s) from the first drop of VS to the center of the second drop of VS (VS2) for 5 seconds.
12. Next, transfer the embryo(s) from VS2 to the center of the third drop of VS (VS3) to 10 seconds.
13. Finally, transfer the embryo(s) from VS3 to the bottom of the fourth drop of VS (VS4).
14. For the vitrification procedure, follow the instructions that accompany the carrier device to be used. Carefully transfer the embryo(s) in < 1 µL of VS solution from drop VS4 into the vitrification device to be used and proceed as instructed using the Directions for Use that accompany the carrier device being used.

## B. Procedure using larger volumes of solution in 4-well multichannel

**Note:** Caution must be taken to avoid any contamination (e.g. microbial, patient, etc.) when using 4-well plates.

1. Fill the liquid nitrogen reservoir with liquid nitrogen to a sufficient depth to submerge a cryotube or goblet on a cryocane and place near to microscope. Attach a cryotube or goblet to the bottom of the cryocane and submerge in the liquid nitrogen in preparation for storage of the vitrified specimens.
2. Determine the number of embryos to be vitrified.



## Česky


**SAGE™ Vitrification Kit**  
**(Sada pro vitrifikaci)**

Popis produktu	REF	Velikost jednotky
Equilibration Solution	ART-8025-A	1 x 2 ml
Vitrification Solution	ART-8025-B	1 x 2 ml

**POUŽITÍ:**  
Tyto produkty jsou určeny pro velmi rychlé zmrazení a zachycení lidských embryí (zygoty v pronukleárním stádiu až embrya ve stádiu rhynování v den 3 a embrya ve stádiu blastocysty) u procedur s vlastní asistovanou reprodukce. Sada musí být použita ve spojení se sadou SAGE™ Vitrification Warming Kit (ART-8030) pro zahřátí a obnovení vzorků.

**POPIS PRODUKTU**  
Equilibration Solution (ART-8025-A) je roztok modifikované HTF pufovaný MOPS, který obsahuje neesenciální a esenciální aminokyseliny, gentamicin sulfát (10 mg/l, 7,5% (v/v) dimethylsulfoxid (DMSO) a ethynglykol a 12 mg/ml lidského sérového albuminu.

Vitrification Solution (ART-8025-B) je roztok modifikované HTF pufovaný MOPS, který obsahuje neesenciální a esenciální aminokyseliny, gentamicin sulfát (10 mg/l, 15% (v/v) dimethylsulfoxid (DMSO) a ethynglykol, 12 mg/ml lidského sérového albuminu a 0,6 M sacharózy.

Tento produkt obsahuje 10 mg/l gentamicinu, což je aminoglykosidické antibiotikum.

**MATERIÁL DODANÉ V RÁMCI**

**VITRIFIKAČNÍ SADY**  
Equilibration Solution, 1 x ampulka, 2 ml (REF # ART-8025-A)

Vitrification Solution, 1 x ampulka, 2 ml (REF # ART-8025-B)

**BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ A VAROVÁNÍ**  
Varování: Dlouhodobá bezpečnost vitrifikace embryí (embryí) u dětí narozených tímto postupem není známa.

**Pozor:** Bezpečnost a účinnost vitrifikace u lidských embryí, které dosud nedosáhly vývojové fáze blastocysty, nebyly plně vyhodnoceny. K dnešnímu dni byly byly hlášeny případy žvč narozených dětí z embryí ve stádiu rhynování, které byly vitrifikovány ve vývojový den 2 (Desai et al., 2007) a došlo ke klinickým těhotenstvím z vitrifikovaných zygotů (Selman & El-Danasoury, 2002).

**Pozor:**Uživatelé si před použitím sad Vitrification Kit a Vitrification Warming Kit pro vitrifikaci lidských embryí musí přečíst a porozumět návodu k použití, bezpečnostním opatřením a varováním, a musí být proškoleni o správných postupech.

**Pozor:** Používejte legálně prodávaná úložná zařízení určená pro použití u vitrifikace embryí. Používejte uzavřené úložné systémy, aby se zabránilo potenciálnímu riziku virové kontaminace, nepoužívejte otevřené úložné systémy, ve kterých vzorek přichází do přímého kontaktu s kapalným dusíkem. Rychlost chlazení úložného zařízení musí být mezi 1 800 až 20 000 °C/ minuta (Carnes et al., 2006).

Složka Equilibration Solution (ART-8025-A) v této sadě obsahuje 12 mg/ml lidského sérového albuminu.

Složka Vitrification Solution (ART-8025-B) v této sadě obsahuje 12 mg/ml lidského sérového albuminu.

**Pozor:** Se všemi krevními produkty je nutné manipulovat jako s potenciálně infekčními. Východí materiál, ze kterého byl tento produkt dovozen, byl při testování na přítomnost HIV-1/HIV-2, HCV shledán negativním a nerekogničním na HbsAg, HCV RNA a HIV-1 RNA. Žádné známé testovací metody však nemohou poskytnout záruku, že produkty získané z lidské krve nepřenesají infekční látky. Látky zdravotního materiálu také prošly screeningem ohledně rizika vystavení Creutzfeldt-Jakobově nemoci (CJD). Na základě účinného screeningu dárců a výrobních procesů je riziko přenosu virových onemocnění velmi malé. Teoretické riziko přenosu CJD je také považováno za velmi malé. U albuminu nebyly nikdy zjištěny žádné případy přenosu virových onemocnění nebo CJD.

S veškerým materiálem lidského původu nakládejte tak, jako kdyby byl schopen přenosu infekce, dodržujte univerzální bezpečnostní opatření.

Standardní opatření zahrnující přenosu infekce v souvislosti s používáním léčných přípravků vyrobených z lidské krve nebo plazmy zahrnují pečlivý výběr dárců, testování jednotlivých odděků krve a plazmatických poúků na specifické ukazatele infekce a účinné výrobní kroky, při nichž jsou inaktivovány nebo odstraněny viry. Přes všechna tato opatření nelze při posávnání léků vyráběných z lidské krve nebo plazmy možnost přenosu infekčních látek zcela vyloučit. To platí i pro jakékoli neznámé nebo vznikající viry a jiné patogeny. Nejsou hlášeny žádné známé případy prokázaných virových přenosů albuminem vyrobeným stanovenými postupy podle specifikací Evropského lékopisu.

**Jednorázové použití:** Aby se předešlo problémům kontaminace používejte aseptické metody a zlikvidujte všechny rozleptané produkty, který po proceduře získané v láhvi nebo ampulce.

Reprodukční média jsou určena pouze k jednorázovému použití. Opakovaným použitím reprodukčního média může dojít k použití produktu po jeho označeném datu expirace nebo zvýšení rizika mikrobiální kontaminace v následném postupu v případě, že zdravotník nepoužije odpovídající aseptické techniky.

Použití produktu po datu expirace nebo mikrobiálně znečištěného produktu může mít za následek nedostatečně optimální podmínky pro podporu oplodnění a/nebo kvalitu embryí v průběhu in-vitro kultivace. Tyto podmínky mohou vést ke špatnému rozvoji nebo uchyvnosti embrya, což může vést k selhání asistované reprodukce.

**Poznámka:** Embryo je považováno za obecný výraz. Přesněji řečeno, SAGE™ bere v úvahu uvození doby, kdy z fúze mužského a ženského genomu vzniká jediná diploidní buňka vedoucí k tvorbě zygoty a následnému rozvoji z opakovaných kápnutím jedné kapky ES o objemu 20 µl na víčko (viz obrázek 1 vpravo).

**Pozor:** Federální zákony Spojených států amerických omezuji prodej tohoto prostředku pouze na lékaře proškoleného v jeho používání (nebo licencovaného zdravotníka), nebo na jeho předpis.

Tento produkt obsahuje antibiotikum gentamicin sulfát. Proveďte příslušná opatření pro zajištění toho, aby pacient nebyl na toto antibiotikum citlivý.

**ZAJIŠTĚNÍ KVALITY**  
Roztoky v této soupravě jsou filtrovány přes membránu a jsou asepticky zpracovány podle postupu cGMP u kterých bylo ověřeno, že splňují úroveň zajištění sterility (SAL) 10<sup>-3</sup>.

Testování jednobuněčným embryem laboratorní myši, prošlo s výsledkem blastocysty 80 % nebo vyšší. Testován USP endotoxin s výsledkem <1 EU/ml.

Pro tento produkt je k dispozici certifikát analýzy.

**POŽADOVANÝ MATERIÁL, KTERÝ NENÍ SOUČÁSTÍ DODÁVKY**

- Sterilní Petriho misky (50 x 9 mm, Falcon 351006 nebo ekvivalent) nebo 4řamkové misky (1ml jamky, Nunc 176740 nebo ekvivalent)
- Kryogenní zkumavky nebo pohárky a držáky na kryogenní nádoby
- Jednorázové rukavice
- Přenosové pipety (troty pipet z taženého skla nebo mikropipety s trotem o vnitřním průměru ~ 200 µm)
- Pinzety
- Časovač nebo stopky
- Nádobna na kapalný dusík (Dewarova nádoba nebo polystyrenová nádoba s víkem, objem 1–2 l)
- Kapalný dusík (dostatečně množství pro dosažení 15cm hloubky v nádobě)

**NÁVOD K POUŽITÍ**  
Složky sady SAGE™ Vitrification Kit potřebné pro jeden proces vitrifikace embrya (maximálně 2 embrya na proces) jsou:

Equilibration Solution (ES): 20 µl až 1 ml

Vitrification Solution (VS): 80 µl až 1 ml

Viz konkrétní pokyny týkající se používání nosiče a zařízení pro zachycení.

**PROTOKOL VITRIFIKACE:**  
Vitrifikace se musí provádět při pokojové teplotě (20–25 °C). Pro následující postupy nepoužívejte vyhřívány stolek mikroskopu. V průběhu inkubace ve vitrificačním a vyrovnávacím roztoku minimalizujte vystavení vzorků světlu. Před použitím roztoky vylmpenujte na pokojovou teplotu.

**A. Metoda s použitím mikrokapek roztoků**

1. Nádřz na kapalný dusík naplňte kapalným dusíkem do dostatečné hloubky, aby bylo možno ponořit kryogenní zkumavku nebo pohárček na držáku pro kryogenní nádoby a umístěte ji do blízkosti mikroskopu.

2. Stanovte počet embryí, který chcete vitrifikovat.

3. Na každou sterilní Petriho misku a nosič / úložné zařízení, které budou použity, nalepte štítek nezbytnými údaji.

4. Před použitím několikrát opatrně obraťte ampulky s roztoky ES a VS, abyste zajistili dobré promíchání obsahu.

5. Připravte obrácené víčko Petriho misky aseptickým kápnutím jedné kapky ES o objemu 20 µl na víčko (viz obrázek 1 vpravo).

6. Vyndejte kulturní misku s embryem (embryí) z inkubátoru a zkontrolujte kvalitu embryí. Kdykoli je to možné, používejte pro vitrifikaci pouze nejvyšší možnou rozšířenou embrya.

7. Opatrně přemísťte embryo (embrya) (ne více než dvě v jedné proceduře) s minimálním množstvím kulturního média do horní části kapky ES, a spusťte časovač. Nechte blastocysty, aby v průběhu svého pádu v kapce ES po dobu 5 až 15 minut dosáhly rovnovážného stavu. Embryo (embrya) se zmenší a potom postupně znovu rozšíří do své původní velikosti, což bude naznačováno, že dosažení rovnovážného stavu je kompletní.

8. V průběhu stavu vyrovnávání v ES připravte 4 x 20 µl kapky roztoku VS, jak je ukázáno na obr. 1.

9. Následující kroky musí být provedeny za 90–110 sekund.

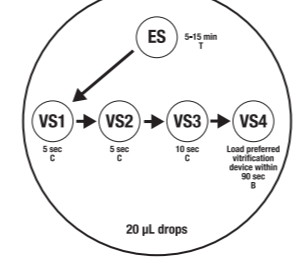
10. Po dosažení rovnovážného stavu v roztoku ES natáhněte část roztoku ES do přenosové pipety a na 5 sekund přenešete embryo (embrya) s minimálním objemem z kapky roztoku ES do středu první kapky roztoku VS (VS1).

11. Na dobu 5 sekund rychle přenešete embryo (embrya) z první kapky roztoku VS do středu druhé kapky roztoku VS (VS2).

12. Následně na dobu 10 sekund přenešete embryo (embrya) z VS2 do středu třetí kapky roztoku VS (VS3).

13. Nakonec přenešete embryo (embrya) z VS3 do spodní části čtvrté kapky roztoku VS (VS4).

14. U procesu vitrifikace postupujte podle pokynů uvedených pro nosič, který chcete použít. Z kapky VS4 opatrně přenešete embryo (embrya) v < 1 µl roztoku VS do vitrificačního zařízení, které chcete použít, postupujte podle pokynů uvedených v návodu k použití pro nosič, který chcete použít.

**Obr. 1**


**LEGENDA:**  
ES = Equilibration Solution (vyrovňovací roztok)  
VS = Vitrification Solution (vitrifikační roztok)  
1 = horní část kapky  
2 = spodní část kapky

15. Pokud bude vitrifikováno více embryí, zopakujte za použití nových kapek roztoků ES a VS výše uvedené kroky 4 až 14.

**Nezapomínejte: Doba mezi prvními umístěním embrya (embryí) do roztoku VS (VS1) a ponořením do kapalného dusíku by neměla přesáhnout dobu, kterou jste pro tento postup stanovili jako optimální, zcela jistě by neměla být delší než 110 sekund (viz výše uvedený bod 9).**

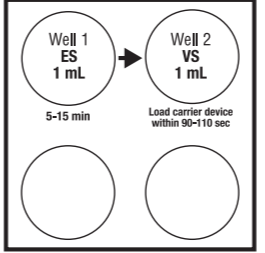
**Uchovávání v kapalném dusíku:** (všechny tyto činnosti musí být provedeny s vitrifikovaným vzorkem zcela ponořeným do kapalného dusíku, aby se zabránilo náhodnému zahřátí). Přenešete vitrifikovaný vzorek do vhodné označené kryogenní zkumavky nebo pohárku připevněného k držáku na kryogenní nádoby, na kterém je umístěn další pohárček, který je obrácený vzhůru nohama, aby působil jako víčko, držák přenešete do úložné s kapalným dusíkem.

**B. Postup používající větší objemy roztoku v 4řamkových destičkách**

**Poznámka:** Při použití 4řamkových misek musíte dávat zvláštní opatření, abyste zabránili jakékoli kontaminaci (např. mikrobiální, pacientem atd.).

1. Nádřz na kapalný dusík naplňte do dostatečné hloubky, aby bylo možno ponořit kryogenní zkumavku nebo pohárček na držáku pro kryogenní nádoby a umístěte ji do blízkosti mikroskopu. Umístěte kryogenní zkumavku nebo pohárček do spodní části držáku na kryogenní nádoby a ponořte ji do kapalného dusíku, abyste ji připravili na uchování vitrifikovaných vzorků.
2. Stanovte počet embryí, který chcete vitrifikovat.
3. Na každou víceřamkovou destičku a nosič / úložné zařízení, které budou použity, nalepte štítek s nezbytnými údaji.

4. Před použitím několikrát opatrně obraťte ampulky s roztoky ES a VS, abyste zajistili dobré promíchání obsahu.

**Obr. 2**


**LEGENDA:**  
ES = Equilibration Solution (vyrovňovací roztok)  
VS = Vitrification Solution (vitrifikační roztok)  
1 = horní část kapky  
2 = spodní část kapky

5. Připravte víceřamkovou destičku kápnutím 1 ml roztoku ES do jamky 1 a 1 ml roztoku VS do jamky 2 (viz níže uvedený obr. 2).
6. Vyndejte kulturní misku s embryem (embryí) z inkubátoru a zkontrolujte kvalitu embryí. Kdykoli je to možné, používejte pro vitrifikaci pouze nejvyšší možnou rozšířenou embrya.
7. Opatrně přemísťte embryo (embrya) (ne více než dvě v jedné proceduře) s minimálním množstvím kulturního média do horní části jamky 1 obsahující roztok ES, a spusťte časovač. Nechte embryo (embrya), aby v průběhu svého pádu v roztoku ES po dobu 5 až 15 minut dosáhly rovnovážného stavu. Embryo (embrya) se zmenší a potom postupně znovu rozšíří do své původní velikosti, což bude naznačováno, že dosažení rovnovážného stavu je kompletní.

8. V průběhu stavu vyrovnávání v ES připravte 4 x 20 µl kapky roztoku VS, jak je ukázáno na obr. 1.
9. Následující kroky musí být provedeny za 90–110 sekund.

10. U procesu vitrifikace postupujte podle pokynů uvedených pro nosič, který chcete použít. Opatrně přenešete blastocystu (blastocysty) v < 1 µl roztoku VS do vitrificačního zařízení, které chcete použít, postupujte podle pokynů uvedených v návodu k použití pro nosič, který chcete použít.

11. Pokud bude vitrifikováno více embryí, zopakujte výše uvedené kroky 7 až 11, použijte nové kapky roztoků ES a VS.

**Každá laboratoř si musí stanovit vlastní podrobnosti , které chce použít pro každý jednotlivý postup.**

Informace o konkrétních aspektech in vitro fertilizace (IVF), kultury embryí a kryokonzervaci jsou k dispozici v našem produktovém katalogu.

**POKYVY PRO SKLADOVÁNÍ A STÁLOST**  
Nestežené nádoby uchovávejte v lednici při teplotě 2 °C až 8 °C. Před použitím vytemperujte na pokojovou teplotu (20–25 °C). Nemrazte a nevystavujte teplotám vyšším než 39 °C. Produkty jsou stabilní až do expirační doby vyznačené na štítku.

1. Aseptickými postupy vyjměte požadované množství produktu. Jedna ampulka obsahuje dostatečné množství roztoku pouze pro jedno použití.
2. Po vyjmutí již do původní nádoby žádný produkt nevracujte. Zbyvatky produkt zlikvidujte.
3. Produkt nepoužívejte v případě ztráty zabarvení, zakalení, nebo pokud vykazuje jakékoli známky mikrobiální kontaminace.

**REFERENCE**

1. Liebermann J, Tucker MJ. 2006 Comparison of vitrification and conventional cryopreservation of day 5 and day 6 blastocysts during clinical application. Fertil Steril 86:20–26.
2. Takahashi K, Mukada T, Goto T, Oka C. 2005 Perinatal outcome of blastocyst transfer with vitrification using cryopack a 4-year follow-up study. Fertil Steril 84: 88–92.
3. Raju GAR, Haranath GB, Krishna KM, et al. 2005 Vitrification of human 8-cell embryos, a modified protocol for better pregnancy rates. Reprod Biomed Online 11:434–437.
4. Hiroaka K, Hiraoaka K, Kunitani M, et al. 2004 Blastocoele collapse by micropipetting prior to vitrification gives excellent survival and pregnancy outcomes for human day 5 and 6 expanded blastocysts. Human Reprod 19:2884–2888.
5. Stehlik E, Stehlik J, Katayama KP, et al. 2005 Vitrification demonstrates significant improvement versus slow freezing of human blastocysts. Reprod Biomed Online 11:53–57.
6. Vanderzwalmen P, Bertin G, Debauche Ch, et al. 2003 Vitrification of human blastocysts with the hemiStraw carrier: application of assisted hatching after thawing. Human Reprod 18:1504–1511.
7. Kuwamura M, Vajta G, Ieda S, et al. 2005 Comparison of open and closed methods for vitrification of human embryos and the elimination of potential contamination. Reprod Biomed Online 11:608–614.
8. Desai N, Blackmon H, Szeptycki J, et al. 2007 Cryoloop vitrification of human day 3 cleavage-stage embryos: post-vitrification development, pregnancy outcomes and live births. Reprod Biomed Online 14:208–213.
9. Selman HA, El-Danasoury I. 2002 Pregnancies derived from vitrified human zygotes. Fertil Steril 77:422–423.

10. Camus A, Clairax P, Ersham A, et al. 2007 Comparison of the processes of five different Vitrification devices. Gynecol Obstet Fertil 34:737–745.

**PŘÍBUZNÉ PRODUKTY**

ART-8030 SAGE™ Vitrification Warming Kit

SAGE In Vitro Fertilization™ nabízí odborníkům v oblasti reprodukční medicíny ucelenou řadu produktů. Pokud chcete získat konkrétní informace nebo obdržet náš aktuální katalog, zavolejte nám nebo napište. Pokud máte technické dotazy nebo chcete kontaktovat naše oddělení styku se zákazníky, volejte linku podpory SAGE™.

**Volejte linku podpory SAGE™:**  
**V USA: (800) 243-2974**  
**Mezinárodní: (203) 601-9818**

**SYMBOLY**

**REF** Katalogové číslo

**LOT** Číslo šarže

**RECYCLE** Spotřebujte do (rok, měsíc, den)

**RECYCLE** Nepoužívejte opakovaně

**RECYCLE** Teplotní omezení

**RECYCLE** Aseptická technika sterilizace  
Filtrováno přes membránu (bláhna 10<sup>-5</sup>)

**RECYCLE** **POZOR:**  
Viz pokyny k použití.

**RECYCLE** Autorizovaný zástupce pro Evropské společenství.

**RECYCLE** Produkt vyhovuje směrnici o zdravotních prostředcích 93/42/EEC

**RECYCLE** Výrobce

**RX ONLY** Federální zákony Spojených států amerických omezuji prodej tohoto prostředku pouze na lékaře (nebo jiné licencované zdravotníka), nebo na jeho předpis.

**SAGE In Vitro Fertilization**  
a CooperSurgical Company

**SAGE™ In Vitro Fertilization, Inc.**  
a CooperSurgical Company  
95 Corporate Drive  
Trumbull, CT 06611 USA

**EC REP**  
ORIGO a/s  
Kvardrupvej 2  
2760 Måløv  
Denmark  
www.origo.com

**Customer Service:**  
E-mail: customer.service@origo.com  
Tel: +45 46 79 02 02 Fax: +45 46 79 03 02

**Українська**

**SAGE Media™**

**SAGE™ Vitrification Kit**

Тільки для лабораторних процедур:  
Інші види використання повинні бути  
кваліфікованими іншими користувачем.

Опис продукту	Вик. номер	Розмір блоку
Equilibration Solution	ART-8025-A	1 x 2 ml
Vitrification Solution	ART-8025-B	1 x 2 ml

**ВИКОРИСТАННЯ ЗА ПРИЗНАЧЕННЯМ**  
Ці продукти призначені для надання кожного заморожування і утримання людських ембріонів (пролонгує зигот ембріонів на стадії дроблення на 3-6 днів і ембріонів на стадії бластоцисти) в процедурах ДРТ. Цей набір призначений для використання в комбінаті з набором SAGE™ Vitrification Warming Kit (ART-8030) з метою нагрівання та відновлення зразків.

**ОПИС ПРОДУКТУ**  
Equilibration Solution (ART-8025-A) являє собою буферний розчин MOPS модифікованої трубної рідини людини (HTF), що містить незмінені і замінні амінокислоти, сульфат гентаміцину (10 мг/мл), по 7.5 % ваг. ДМСО і етіленгліколю, і 12 мг/мл сироваткового альбуміну людини.

Vitrification Solution (ART-8025-B) являє собою буферний розчин MOPS модифікованої трубної рідини людини (HTF), що містить незмінені і замінні амінокислоти, сульфат гентаміцину (10 мг/мл), по 15 % ваг. ДМСО і етіленгліколю, 12 мг/мл сироваткового альбуміну людини і 0.6 М сахарозу.

У цьому продукті містяться 10 мг/мл гентаміцину (аміноглікозидний антибіотик).

**МАТЕРІАЛИ, ЩО ВХОДЯТЬ В VITRIFICATION KIT**  
1 x 2 мл флазон з Equilibration Solution (вик. № ART-8025-A)  
1 x 2 мл флазон з Vitrification Solution (вик. № ART-8025-B)

**ЗАСТЕРЕЖЕННЯ І ПОПЕРЕДЖЕННЯ**  
Попередження: вплив вітрифікації ембріонів на здоров'я народжених в результаті застосування даної процедури дітей в довготривалій перспективі не вивчено.

**Обережне:** безпека та ефективність вітрифікації не була повністю оцінена в людських ембріонах, які ще не досягли у своєму розвитку стадії бластоцисти. На сьогоднішній день повідомляється про жовчанофарингіт від стадії дроблення ембріонів, вітрифікованих на 3-9 днів розвитку (Desai et al., 2007) і кліничні вагітності, доскануті на основі вітрифікованих зигот (Selman & El-Dansoury, 2002).

**Застереження:** еμβριолог, що приступає до вітрифікації ембріонів, повинен прочитати і зрозуміти інструкцію з використання, застереження й попередження і відраховувати методику використання набору Vitrification Kit та Vitrification Warming Kit.

**Обережне:** використовуйте легально проданий пристрій для зберігання, призначений для використання в процедурах вітрифікації ембріонів. Для запобігання потенційному ризику високого зараження використовуйте закриті системи зберігання. Не використовуйте відкриті системи зберігання, в яких зразок знаходиться в безпосередньому контакті з рідким азотом.

Швидкість охолодження в пристрої зберігання повинна бути в межах від 1 800 до 20 000 °C/хв (Camus et al., 2006).

Equilibration Solution (ART-8025-A) в даному наборі містить 12 мг/мл сироваткового альбуміну людини.

Vitrification Solution (ART-8025-B) в даному наборі містить 12 мг/мл сироваткового альбуміну людини.

**Обережне:** усі препарати крові вважаються потенційно інфекційними. Вихідний матеріал, з якого був отриманий цей продукт, показав негативний результат при тестуванні на антигени до ВІЛ-1/ВІІ-2, ВСГ та вивисся використанням при переписі на HBsAg, РНК ВСГ, РНК ВІЛ-1. Жоден із відомих методів аналізу не може гарантувати відсутність збудників інфекцій у препаратах, виготовлених на основі крові людини. Донори вихідного матеріалу були перевірені на захворювання Крейтцфельда-Якобса (CJD). Завжди ефективною обережною дією є процес виробництва продукту, можна стверджувати, що ризик передати вірусні інфекції практично відсутній. Потрібні чіткі процедури сороби продуктом і високим ризиком мікробної контамінації матеріалу при подальшому проведенні процедури, якщо практичний флавіець буде нестерильним застосувати належні асептичні методи.

При використанні просторічних або зрідканих середовищ умов пі чго можуть бути значно гірше необхідні для нормального запліднення і розвитку ембріонів. Це може призвести до порушення розвитку ембріонів, їх нездатності до імплантації і, як наслідок, до порушення доліжньої репродуктивної процедури.

**Примітка:** ембріон вважається загальним терміном. Більш точно, SAGE™ розробляє період часу ініціалізації, коли утворюється одична диплоїдна клітина при злитті чоловічого та жіночого генома, в результаті чого утворюється зигота з подальшим розвитком від багаторазового мітозичного поділу з утворенням твароді меси або морули (як правило, на 4-5 днів), і після якого розвивається заповнена рідиною порожнина, що, в свою чергу, призводить до утворення бластоцисти (як правило, на 5-6 днів), в результаті чого відбувається імплантація, початок якої припадає на перший тиждень і завершується до кінця другого тижня після запліднення.

Стандартні методи запобігання зараженню в результаті використання медичної продукції.

Обробляйте всі матеріали людського походження так, як ніби вони здатні передавати інфекцію, для чого використовуйте універсальні запобіжні заходи. Стандартні методи запобігання зараженню в результаті використання медичної продукції, виробленої з крові або плазми людини, включають відбір донора, обережне донорського матеріалу і глибокі плазми на специфічні маркери інфекції та впровадження ефективних заходів для дезактивації/інектизації вірусів на виробничій лінії. Незважаючи на ці заходи, можливість передати збудника інфекції в результаті застосування медичної продукції, виробленої з крові або плазми людини, не може бути виключено повністю. Це стосується також можливості передачі нещадних або нових вірусів і інших патогенів. Винахід передати вірусів з зм'ягненням, виробленим відповідно до вимог Європейської фармакопей за допомогою затверджених виробничих процедур, не описані.

**Одноразове використання:** з метою попередження контамінації слід працювати з середо-

вищем в стерильних умовах і вилити залишки середовища з флазона або пробірки після закінчення процедури.

Продукти репродуктивного середовища призначені тільки для одноразового використання. Результатом повторного використання середовища може стати робота з просторічним продуктом і високим ризиком мікробної контамінації матеріалу при подальшому проведенні процедури, якщо практичний флавіець буде нестерильним застосувати належні асептичні методи.

Протипотрапа на онократичних ембріонах мшій (МЕА). Показано формування 80 % і більше бластоцист. Пройдений тест на ендотоксин USP з результатом < 1 одиниць ендотоксину/мл.

Результати всіх тестів для даного продукту індифікуються з відповідним сертифікатом аналізу, що надіється за запитом.

**НЕОБІДНІ МАТЕРІАЛИ, ЩО НЕ ВХОДЯТЬ У СКЛАД НАБОРУ**

**ЗАБЕЗПЕЧЕННЯ ЯКОСТІ**  
Розчин в цьому наборі профільтрований через мембранний фільтр і асептично оброблений відповідно до вимог для процедур щ МР, сертифікований на предмет дотримання вимог гарантованого рівня стерильності (SAL) 10<sup>-3</sup>.

Протипотрапа на онократичних ембріонах мшій (МЕА). Показано формування 80 % і більше бластоцист. Пройдений тест на ендотоксин USP з результатом < 1 одиниць ендотоксину/мл.

Результати всіх тестів для даного продукту індифікуються з відповідним сертифікатом аналізу, що надіється за запитом.

**НЕОБІДНІ МАТЕРІАЛИ, ЩО НЕ ВХОДЯТЬ У СКЛАД НАБОРУ**

- Стерильні чашки Петрі (50 x 9 мм, Falcon 351006 або еквівалентні) або 4-луничі планшети (з 1 мл лунками, Nunc 176740 або еквівалентні)
- Кріопробирки або келіколідні посудини і тримачі для заморожування
- Обидва розраховані
- Пелючки для передачі (пелючки з витягнутою склянкою або кімчи мікропелючки з внутрішнім діаметром кімчи 200 мкм)
- Пилочки
- Таймер або секундомір
- Резервуар з рідким азотом (резервуар Дюара або з пінопласту/стіролу з кришкою об'ємом 1-2 л)
- ЛЦ, достатній об'єм для досягнення висоти 6 долей в резервуарі

**ІНСТРУКЦІЯ З ВИКОРИСТАННЯ**  
Компоненти SAGE™ Vitrification Kit, необхідні для проведення однієї процедури вітрифікації ембріонів (не більше 2-х ембріонів в кожній процедурі) наступні:

Equilibration Solution (ES): від 20 мкл до 1 мл  
Vitrification Solution (VS): від 80 мкл до 1 мл

Дізнйтесь відповідні інструкції щодо використання цього пристрою для витримування.

**ПРОТОКОЛ ВІТРИФІКАЦІЇ**  
Процедура вітрифікації повинна виконуватися при кімнатній температурі (20-25 °С). Для нижчоприказаних процедур не використовуйте високу мікроскопа з підтримкою. Під час зливання в Equilibration Solution та Vitrification Solution мінімум зупити диво світла на зразок. Перед використанням додайте розчини до кімнатної температури.

**А. Процедура з використанням мікроскопелючки об'ємів розчинів**

1. Залийте ЛЦ в резервуар з ЛЦ, на достатньо глибоко, щоб занурити кріопробірку або келіколідну посудину на тримачі для заморожування, і помістіть поруч з мікроскопом. Прикріпіть кріопробірку або келіколідну посудину до нижньої частини тримача для заморожування і занурте в ЛЦ під час підготовки до зберігання вітрифікованих зразків.

2. Визначте кількість вітрифікованих ембріонів.
3. Макруйте кожну стерильну чашку Петрі і використовуйте пристрій-носій/пристрій для зберігання необхідну інформацію.
4. Переконатися, що вміст всіх флазонів з розчинами ES та VS добре перемішаний акуратним первертанням кілька разів перед використанням.

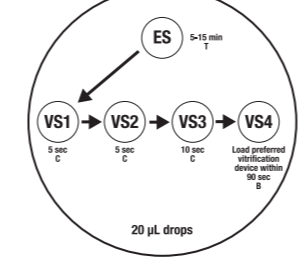
5. Підготуйте первестину кришки чашки Петрі, для чого з стерильних умов розведть на кришці одну краплю 20 мкл розчину ES (див. Рис. 1, вверху).
6. Вийміть культуральну чашку з ембріонами з медичного інкубатора і перевірте якість ембріонів. Для вітрифікації використовуйте по можливості тільки розширені/ї ембріонів

**Примітка:** при використанні 4-луничого планшета слід вжити заходів обережності, щоб уникнути будь-якого забруднення (наприклад, мікробного, паціста, тощо).

**В. Процедура з використанням великих об'ємів розчинів в 4-луничовому планшеті**

**Примітка:** при використанні 4-луничого планшета слід вжити заходів обережності, щоб уникнути будь-якого забруднення (наприклад, мікробного, паціста, тощо).

Рис. 1



**ПОСВЕННЯ:**  
ES = Equilibration Solution  
VS = Vitrification Solution  
T = чашка Petri  
C = кришка Petri  
B = блок

**Посвения:**  
ES = Equilibration Solution  
VS = Vitrification Solution  
T = чашка Petri  
C = кришка Petri  
B = блок

протом від 5 до 15 хвилин. Ембріонів сорортити (скоротитися), а потім поступово знову розширитися (розширяться) до свого початкового розміру, що свідчить про те, що встановлення рівноваги завершено.

**Нагядування:** час між першим розміщенням ембріонів(в) в розчин VS (VS1) і зануренням в ЛЦ не повинен перевищувати час, яке визначено як оптимальний для цієї процедури, і в жодному разі не повинні бути більше 110 секунд (див. п. 9 вище).

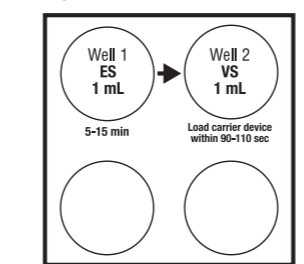
**Зберігання в ЛЦ:** (щоб уникнути можливого небажаного нагрівання, всі два процедури повині виконуватися з вітрифікованим зразком, повністю зануреним в ЛЦ). Перевірте вітрифікований зразок в належним чином марковану кріопробірку або келіколідну посудину, придану до тримача для заморожування з іншою келіколідною посудиною, повернутим над верхньою частиною, що використовується в якості кришки, і переврте тримач для заморожування в резервуар для зберігання ЛЦ.

**В. Процедура з використанням великих об'ємів розчинів в 4-луничовому планшеті**  
**Примітка:** при використанні 4-луничого планшета слід вжити заходів обережності, щоб уникнути будь-якого забруднення (наприклад, мікробного, паціста, тощо).

**Примітка:** при використанні 4-луничого планшета слід вжити заходів обережності, щоб уникнути будь-якого забруднення (наприклад, мікробного, паціста, тощо).

3. Макруйте необхідну інформацію кожний багатолуничовий планшет і використовуйте пристрій-носій/пристрій для зберігання.
4. Переконатися, що вміст всіх флазонів з розчинами ES та VS добре перемішаний акуратним первертанням кілька разів перед використанням.
5. Підготуйте багатолуничовий планшет для чого в стерильних умовах дозуйте 1 мл розчину ES в лунку № 1 і 1 мл розчину VS – в лунку № 2 (див. Рис. 2, нижче).

Рис. 2



**ПОСВЕННЯ:**  
ES = Equilibration Solution  
VS = Vitrification Solution  
T = переклад ембріонів в наступну лунку

6. Вийміть культуральну чашку з ембріонами з медичного інкубатора і перевірте якість ембріонів. Для вітрифікації використовуйте по можливості тільки розширені ембріони найкращої якості.
7. Акуратно пересадте ембріонів(и) (не більше двох в кожній процедурі) з мінімальним об'ємом живильного середовища в верхню частину лунки № 1, що містить розчин ES, і запустіть таймер. Зачекайте, поки ембріони урівноважаться в краплі розчину ES під час вільного падіння протягом від 5 до 15 хвилин. Ембріонів скоротяться (скоротяться), а потім поступово знову розширяться (розширяться) до свого початкового розміру, що

свідчить про те, що встановлення рівноваги завершено.

**Примітка:** при використанні 4-луничого планшета слід вжити заходів обережності, щоб уникнути будь-якого забруднення (наприклад, мікробного, паціста, тощо).

**Примітка:** при використанні 4-луничого планшета слід вжити заходів обережності, щоб уникнути будь-якого забруднення (наприклад, мікробного, паціста, тощо).

**Примітка:** при використанні 4-луничого планшета слід вжити заходів обережності, щоб уникнути будь-якого забруднення (наприклад, мікробного, паціста, тощо).

**Примітка:** при використанні 4-луничого планшета слід вжити заходів обережності, щоб уникнути будь-якого забруднення (наприклад, мікробного, паціста, тощо).

**3.** Не застосовуйте препарат, якщо середовище стало безбарвним, капаєтним або має ознаки мікробної контамінації.

**ПОСВІННЯ**

1. Liebermann J, Tucker MJ. 2006 Comparison of vitrification and conventional cryopreservation of day 5 and day 6 blastocysts during clinical application. Fertil Steril 86:20-26.
2. Takahashi K, Mukaida T, Goto T, Oka C. 2005 Perinatal outcome of blastocyst transfer with vitrification using cryoloop: a 4-year follow-up study. Fertil Steril 84: 89-92.
3. Rijou GAR, Haranath GB, Krishna KM, et al. 2005 Vittrification of human 8-cell embryos, a modified protocol for better pregnancy rates. Reprod Biomed Online 11:434-437.
4. Hirako K, Hirako K, Kubota M, et al. 2004 Blastocole collapse by microprojecting prior to vitrification gives excellent survival and pregnancy outcomes for human day 5 and 6 expanded blastocysts. Human Reprod 19:2884-2888.
5. Stehlik E, Stehlik J, Katayama KP, et al. 2005 Vitrification demonstrates significant improvement versus slow freezing of human blastocysts. Reprod Biomed Online 11:53-57.
6. Verzuvalpen P, Bertin G, Debache Ch, et al. 2003 Vittrification of human blastocysts with the hertsStraw carrier: application of assisted hatching after thawing. Human Reprod 18:1504-1511.
7. Kawayama M, Vajta G, Ieda S, et al. 2005 Comparison of open and closed methods for vitrification of human embryos and the elimination of potential contamination. Reprod Biomed Online 11:608-614.
8. Desai N, Blackton H, Szeplycki J, et al. 2007 Cryoloop vittrification of human day 3 cleavage-stage embryos: post- vittrification development, pregnancy outcomes and live births. Reprod Biomed Online 14:208-213.
9. Selman HA, El-Dansoury I. 2002 Pregnancies derived from vitrified human zygotes. Fertil Steril 77:422-423.

**10.** Camus A, Clairax P, Ersham A, et al. 2007 Comparison of the processes of five different Vittrification devices. Gynecol Obstet Fertil 34:737-745.

**СУПІТНІ ПРОДУКТИ**

SAGE In Vitro Fertilization™ має повну лінійку продуктів, призначених для репродуктивної медицини. Будь ласка, телефонуйте або пишть для отримання докладної інформації або щоб отримати прирмрак нашого логотипа каталогу. З технічних питань або для звернення в наш відділ обслуговування клієнтів телефонуйте за номером служби підтримки SAGE™.

**ТЕЛЕФОН ПІДТРИМКИ SAGE™ У США: (800) 243-2974 Міжнародний: (203) 861-8818**

**Посвения символів**

**REF** Каталоговий номер

**LOT** Номер партії

**U** Строк придатності (рок, місяць, день)

**+** Не використовувати повторно

**T** Обмеження температури

**ТЕКСТ** Асептична стерилізація

**Т** Відфільтровано через мембранний фільтр (SAL 10<sup>-5</sup>)

**U** УВАГА: Див. інструкції за використання.

**ЕС REF** Утвержденный представитель в Европейском співтоваристві.

**CE** Продукт відповідає вимогам Общественного Обладания 93/42/EEC

**ИЗ** Виробник

**ТІЛЬКІ ІЗ** Федеральний закон США дозволяє продаж цього пристрою тільки за спеціальною ліцензією або практичного флавіець, що має належну ліцензію.

**SAGE** In Vitro Fertilization  
a CooperSurgical Company

SAGE™ In Vitro Fertilization, Inc.  
a CooperSurgical Company  
95 Corporate Drive  
Trombly, CT 06611 USA

ES REF  
ORIG 03 а/в  
Клоадрупев 2  
2760 Målev  
Denmark  
www.origio.com

**Customer Service:**  
E-mail: customer.service@origio.com  
Tel: +45 46 79 02 02 Fax: +45 46 79 03 02