

# FertiVit™ Cooling/Warming Kit

(EN)

Media for vitrification and warming of human oocytes and embryos up to the blastocyst stage

Doc. reference: FP09 I46 03 R01 A.2  
Update: 18.04.2016

## INTENDED USE

FertiVit Cooling and FertiVit Warming are a set of media for vitrification and warming of human oocytes and embryos.

## BACKGROUND

Vitrification of zygotes and embryos is an established technique which has become standard practice in ART-settings. Because of European regulations defining medical safety requirements for cryopreservation of human cells; hermetically closed (aseptic) containers were developed which avoid direct contact between the embryo and liquid nitrogen during cooling and long-term storage. The FertiVit Cooling/Warming kit is designed to work well with the reduced cooling rates which are inherent to the use of closed vitrification devices (due to thermo-isolation). In recent years, there has also been a resurgence of interest in cryopreservation of oocytes due to the desire to preserve fertility potential in young women undergoing gonadotoxic treatments and restrictive legislation which prevent embryo cryopreservation in some countries. The American Society for Reproductive Medicine (ASRM) reported the results of a meta-analysis in order to evaluate the efficacy and safety of oocyte cryopreservation. 1200 articles were evaluated, including 4 randomized controlled trials in which the outcomes with cryopreserved and fresh oocytes in IVF/ICSI cycles were compared. From these studies, it was concluded that there is good evidence that the clinical outcome is similar for ART procedures with fresh oocytes compared to vitrified/warmed oocytes.<sup>1</sup> This finding has been confirmed by clinical data obtained with FertiVit Cooling/Warming kit.

## COMPOSITION

Media are HTF-based and contain HEPES, sucrose, human serum albumin (12-20 g/liter). Cooling media also contain DMSO, Ethylene Glycol (EG) and Ficoll. None of the media contains antibiotics.

## MATERIAL INCLUDED WITH THE KIT

One kit will provide sufficient medium for approximately 3-4 procedures.

**FertiVit Cooling kit (FVC\_KIT)** contains one bottle each of the following media:

- » Product code FP1005: 5 ml Pre-incubation medium ("PI")
- » Product code FVC1001: 1 ml Cooling 1 ("C1")
- » Product code FVC2001: 1 ml Cooling 2 ("C2")
- » Product code FVC3001: 1 ml Cooling 3 ("C3")
- » Product code FVC4001: 1 ml Cooling 4 ("C4")
- » Product code FVC5001: 1 ml Cooling 5 ("C5")

**FertiVit Warming kit (FWW\_KIT)** contains one bottle each of the following media:

- » Product code FW1005: 5 ml Warming 1 ("W1")
- » Product code FW2001: 1 ml Warming 2 ("W2")
- » Product code FW3001: 1 ml Warming 3 ("W3")
- » Product code FW4001: 1 ml Warming 4 ("W4")
- » Product code FW5001: 1 ml Warming 5 ("W5")
- » Product code FW6001: 1 ml Warming 6 ("W6")

The media should be used in the order displayed above (the bottles may be in a different order in the box).

## MATERIAL NOT INCLUDED WITH THE KIT

- » Well dishes
- » Freezing tank with liquid nitrogen
- » Water bath (able to hold 37°C)
- » Attenuated pipettes
- » Forceps
- » Closed vitrification device (e.g. HSV straws (Cryo Bio Systems) or VitriSafe)
- » LAF-bench (ISO Class 5), Microscope, Lab timer

## FERTIVIT COOLING/WARMING KIT AND EMBRYO CULTURE

The FertiVit Cooling/Warming kit can be used in combination with GAIN, FertiCult IVF medium and FertiCult Flushing medium (FertiPro) to culture, wash oocytes and embryos before vitrification and after warming.

## PRODUCT SPECIFICATIONS

- » Chemical composition
- » pH: 7,20 – 7,50 (release criteria: 7,20-7,40)
- » Osmolality (mOsm/kg):
  - » Pre-incubation / Warming 6: 270-295 (release criteria: 270-290)
  - » Warming 3: 805-865 (release criteria: 805-850)
  - » Warming 4: 535-565
  - » Warming 5: 405-435
- » Sterility: Sterile (SAL 10<sup>-3</sup>)
- » Endotoxins: < 0.25 EU/ml
- » Mouse Embryo Assay (blastocysts after 96h) ≥ 80%
- » Use of Ph Eur or USP grade products if applicable
- » The certificate of analysis and MSDS are available upon request

## PRE-USE CHECKS

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

## STORAGE INSTRUCTIONS

Store between 2-8°C. Do not freeze before use. Keep away from (sun)light. The products can be used safely up to 7 days after opening, when sterile conditions are maintained and the products are stored at 2-8°C. Do not use after expiry date. Stable after transport (max. 5 days) at elevated temperature (≤37°C).

## WARNINGS AND PRECAUTIONS

Standard measures to prevent infections resulting from the use of medicinal products prepared from human blood or plasma include selection of donors, screening of individual donations and plasma pools for specific markers of infection and the inclusion of effective manufacturing steps for the inactivation/removal of viruses. Despite this, when medicinal products prepared from human blood or plasma are administered, the possibility of transmitting infective agents cannot be totally excluded. This also applies to unknown or emerging viruses and other pathogens. There are no reports of proven virus transmissions with albumin manufactured to European Pharmacopoeia specifications by established processes. Therefore, handle all specimens as if capable of transmitting HIV or hepatitis. Always wear protective clothing when handling specimens. Always work under strict hygienic conditions (e.g. LAF-bench ISO Class 5) to avoid possible contamination. Only for the intended use. The long-term safety of oocyte/embryo vitrification on children born following this procedure is unknown.

## METHOD

Ensure that all media bottles of the kit are well mixed before use and warmed to room temperature (~22°C). One exception is **Warming 1**, which must be warmed to 37°C before use. We strongly advise to read through all the steps of the vitrification/warming procedure before starting the procedure.

## VITRIFICATION OF OOCYTES with closed device

### Preliminary steps

- » Cooling procedure: In a 6-well dish, fill the first well with 250-300 µl of Pre-incubation medium, the second with Cooling 1, the third with Cooling 2 and continue doing so until Cooling 5.
- » Warming procedure: In a 6-well dish, fill the first well with 250-300µl of Warming 1, the second with Warming 2, the third with Warming 3, and continue doing so until Warming 6.
- » Open the necessary number of vitrification devices, taking into account that 1 device can hold 2-3 oocytes, in a maximum volume load of 1µl (check the instructions for the device you are using). Conveniently place the separate parts of the device on the workbench for easy access later in the procedure.
- » Up to 5 vitrification cycles (of the same patient) can be performed with one media set-up. Do not use the same media for different patients!

### Cooling protocol

- » Warm all media of the kit to room temperature (22°C) before use.
- » Oocytes are sequentially exposed to the following media:

	PI	C1	C2	C3	C4	C5
DMSO/EG (%)	0	1.25	2.5	5	10	20
	2 min.	3 min.	3 min.	3 min.	5-6 min.	60 sec.*

\* Note: The complete process of placing the oocyte in "Cooling 5", loading the oocyte on the vitrification device in maximum 1µl C5, inserting the device in the outer straw and sealing should not take longer than 60 seconds before plunging the device into the liquid nitrogen.

### Warming protocol

- » Warm all media of the kit to room temperature (22°C) before use. Exception: Bring Warming 1 to 37°C before use (preferably in a tube).
- » Oocytes are sequentially exposed to the following media:

	W1 (37°C)	W2	W3	W4	W5	W6
Sucrose (M)	1	0.75	0.50	0.25	0.125	0
	1 min.	1 min.	1-2 min.	2 min.	2 min.	1-2 min.*

\* Note: Wash for 1-2 min before transfer to culture medium.

## VITRIFICATION OF EMBRYOS (ZYGOTE TO BLASTOCYST) with closed device

### Preliminary steps

- » For vitrification of embryos, the following media are NOT required:
  - » FertiVit Cooling 1
  - » FertiVit Cooling 2
  - » 4-cell till blastocyst: FertiVit Warming 5

» Cooling procedure: In a 6-well dish, fill the first well with 250-300µl of Pre-incubation medium, the second with Cooling 3, the third with Cooling 4 and the last with Cooling 5.

» Warming procedure: In a 6-well dish, fill the first well with 250-300µl of Warming 1, the second with Warming 2, the third with Warming 3, the fourth with Warming 4, the fifth with Warming 5 (only for zygotes) and the last with Warming 6.

» Open the necessary number of vitrification devices, taking into account that 1 device can hold 1-2 embryos in a maximum volume load of 1µl (check the instructions for the device you are using). Conveniently place the separate parts of the device on the workbench for easy access later in the procedure.

» Up to 5 vitrification cycles (of the same patient) can be performed with one media set-up. Do not use the same media for different patients!

### Cooling protocol

- » Warm all media of the kit to room temperature (22°C) before use.
- » Embryos are sequentially exposed to the following media:

	PI	C3	C4	C5
DMSO/EG (%)	0	5	10	20
Zygotes	2 min.	5 min.	5 min. 30 sec.	40-60 sec.*
4-cell to blastocyst	2 min.	5 min.	4 min.	40-60 sec.*

\* Note: The complete process of placing the embryo in "Cooling 5", loading the embryo on the vitrification device in maximum 1 µl C5, inserting the device in the outer straw and sealing should not take longer than 60 seconds before plunging the device into the liquid nitrogen.

### Warming protocol

- » Warm all media of the kit to room temperature (22°C) before use. Exception: Bring Warming 1 to 37°C before use (preferably in a tube).
- » Embryos are sequentially exposed to the following media:

	W1 (37°C)	W2	W3	W4	W5	W6
Sucrose (M)	1	0.75	0.50	0.25	0.125	0
Zygotes	1 min.	1 min.	1 min.	2 min.	2 min.	1-2 min.*
4-cell to blastocyst	1 min.	1 min.	1-2 min.	2 min.	1-2 min.*	1-2 min.*

\* Note: Wash for 1-2 min before transfer to culture medium.

# FertiVit™ Cooling/Warming Kit

(FR)

Milieux pour la vitrification et le réchauffement d'oocytes et d'embryons (jusqu'au stade blastocyste) humains

Référence document : FP09 I46 03 R01 A.2  
Mise à jour : 18.04.2016

## UTILISATION PRÉVUE

FertiVit Cooling et FertiVit Warming sont un ensemble de milieux pour la vitrification et le réchauffement d'oocytes et d'embryons humains.

## CONTEXTE

La vitrification de zygotes et d'embryons est une technique bien établie qui fait désormais figure de pratique standard pour l'AMP. Des récipients fermés hermétiquement (aseptiques) évitant tout contact direct entre l'embryon et l'azote liquide pendant le refroidissement et le stockage à long terme ont été mis au point en réponse à la réglementation européenne définissant des exigences de sécurité médicale pour la cryopreservation des cellules humaines. Le kit FertiVit Cooling/Warming est conçu pour fonctionner correctement avec les vitesses de refroidissement réduites inhérentes à l'utilisation de dispositifs de vitrification fermés (dus à l'isolation thermique). Au cours de ces dernières années, un regain d'intérêt pour la cryopreservation des oocytes a par ailleurs été observé en raison de la volonté de préserver le potentiel reproducteur des jeunes femmes soumises à des traitements gonadotoxiques et de la législation restrictive interdisant la cryopreservation des embryons dans certains pays. L'ASRM (American Society for Reproductive Medicine) a rapporté les résultats d'une méta-analyse visant à évaluer l'efficacité et la sécurité de la cryopreservation des oocytes. 1200 articles ont été évalués, dont 4 essais randomisés contrôlés dans lesquels les résultats obtenus avec des oocytes cryopréservés et frais lors de cycles de FIV/ICSI ont été comparés. Ces études ont permis de conclure qu'il existe des données solides indiquant que le résultat clinique des procédures d'AMP est similaire pour les oocytes frais et pour les oocytes vitrifiés/réchauffés.<sup>1</sup> Ces conclusions ont été confirmées par les données cliniques obtenues avec le kit FertiVit Cooling/Warming.

## COMPOSITION

Les milieux sont à base d'HTF et contiennent de l'HEPES, du saccharose et de la sérum-albumine humaine (12-20 g/l). Les milieux de refroidissement contiennent également du DMSO, de l'éthylène glycol (EG) et du Ficoll. Tous les milieux sont exempts d'antibiotiques.

## MATÉRIEL FOURNI AVEC LE KIT

Un kit fourni suffisamment de milieu pour environ 3-4 procédures.

**Kit FertiVit Cooling (FVC\_KIT)** contient un flacon de chacun des milieux suivants :

- » Code de produit FP1005 : 5 ml de Pre-incubation medium (« PI »)
- » Code de produit FVC1001 : 1 ml de Cooling 1 (« C1 »)
- » Code de produit FVC2001 : 1 ml de Cooling 2 (« C2 »)
- » Code de produit FVC3001 : 1 ml de Cooling 3 (« C3 »)
- » Code de produit FVC4001 : 1 ml de Cooling 4 (« C4 »)
- » Code de produit FVC5001 : 1 ml de Cooling 5 (« C5 »)

**Kit FertiVit Warming (FWW\_KIT)** contient un flacon de chacun des milieux suivants :

- » Code de produit FW1005 : 5 ml de Warming 1 (« W1 »)
- » Code de produit FW2001 : 1 ml de Warming 2 (« W2 »)
- » Code de produit FW3001 : 1 ml de Warming 3 (« W3 »)
- » Code de produit FW4001 : 1 ml de Warming 4 (« W4 »)
- » Code de produit FW5001 : 1 ml de Warming 5 (« W5 »)
- » Code de produit FW6001 : 1 ml de Warming 6 (« W6 »)

Les milieux doivent être utilisés dans l'ordre affiché ci-dessus (les flacons peuvent être disposés dans un ordre différent dans la boîte).

## MATÉRIEL NON FOURNI AVEC LE KIT

- » Boîtes à puits
- » Cuve de congélation contenant de l'azote liquide
- » Bain-marie (pouvant être maintenu à 37 °C)
- » Pipettes atténuées
- » Pince
- » Dispositif de vitrification fermé [p. ex., paillettes HSV (Cryo Bio Systems) ou VitriSafe]
- » Poste de travail à flux d'air laminaire (classe ISO 5), microscope, chronomètre de laboratoire

## KIT FERTIVIT COOLING/WARMING ET CULTURE D'EMBRYONS

Le kit FertiVit Cooling/Warming peut être utilisé en combinaison avec GAIN medium, FertiCult IVF medium et FertiCult Flushing medium (FertiPro) pour cultiver et rincer les oocytes et les embryons avant la vitrification et après le réchauffement.

## CHARACTÉRISTIQUES DU PRODUIT

- » Composition chimique
- » pH : 7,20-7,50 (critère de libération : 7,20-7,40)
- » Osmolalité (mOsm/kg) :
  - » Pre-incubation/Warming 6 : 270-295 (critère de libération : 270-290)
  - » Warming 3: 805-865 (critère de libération : 805-850)
  - » Warming 4: 535-565
  - » Warming 5: 405-435
- » Stérilité : stérile (SAL 10<sup>-3</sup>)
- » Endotoxines : < 0,25 UE/ml
- » Essai sur embryon de souris (blastocysts après 96 h) ≥ 80%
- » Utilisation de produits de qualité Ph. Eur. ou USP, le cas échéant
- » Le certificat d'analyse et la FDS sont disponibles sur demande

## VÉRIFICATIONS PRÉALABLES À L'UTILISATION

- » Ne pas utiliser le produit s'il devient trouble ou s'il présente des signes de contamination microbienne.
- » Ne pas utiliser le produit si le scellé du contenant est rompu ou défectueux à la livraison du produit.

## INSTRUCTIONS POUR LA CONSERVATION

Conservé entre 2 et 8 °C. Ne pas congeler avant utilisation. Tenir à l'abri de la lumière (du soleil). Les produits peuvent être utilisés en toute sécurité jusqu'à 7 jours après ouverture si les conditions de stérilité sont respectées et si les produits sont conservés entre 2 et 8 °C. Ne pas utiliser une fois la date de péremption dépassée. Stable après un transport (max. 5 jours) à température élevée (≤ 37 °C).

## MISES EN GARDE ET PRÉCAUTIONS

Les mesures standard pour prévenir les infections résultant de l'utilisation des médicaments préparés à partir de sang et de plasma humains incluent la sélection des donneurs, la recherche de marqueurs spécifiques d'infection sur les dons individuels et les mélanges de plasma et l'inclusion d'étapes de fabrication efficaces pour l'inactivation/élimination virale. Toutefois, lorsque des médicaments préparés à partir de sang ou de plasma humains sont administrés, la possibilité de transmission d'agents infectieux ne peut être totalement exclue. Ceci s'applique également aux virus inconnus ou émergents et autres agents pathogènes. Aucune transmission avérée de virus n'a été rapportée avec l'albumine fabriquée conformément aux spécifications de la pharmacopée européenne selon les procédés établis. Manipuler par conséquent tous les échantillons comme s'ils pouvaient transmettre le VIH ou l'hépatite. Toujours porter des vêtements de protection lors de la manipulation des échantillons. Toujours travailler dans des conditions d'hygiène strictes (p. ex., poste de travail à flux d'air laminaire, classe ISO 5) pour éviter une éventuelle contamination. Destinée uniquement à l'utilisation prévue. La sécurité à long terme de la vitrification des oocytes/embryons pour les enfants nés à la suite de cette procédure n'est pas connue.

## MÉTHODE

S'assurer que tous les flacons de milieu du kit ont été mélangés correctement et réchauffés à température ambiante (~22 °C) avant utilisation. Le milieu **Warming 1**, qui doit être réchauffé à 37 °C avant utilisation, constitue la seule exception. Nous recommandons fortement de lire toutes les étapes de la procédure de vitrification/réchauffement avant de commencer cette dernière.

## VITRIFICATION D'OOCYTES au moyen d'un dispositif fermé

### Étapes préliminaires

- » Procédure de refroidissement : dans une boîte à 6 puits, remplir le premier puit de 250-300 µl de Pre-incubation medium, le deuxième de Cooling 1, le troisième de Cooling 2, et ainsi de suite jusqu'au Cooling 5.
- » Procédure de réchauffement : dans une boîte à 6 puits, remplir le premier puit de 250-300 µl de Warming 1, le deuxième de Warming 2, le troisième de Warming 3, et ainsi de suite jusqu'au Warming 6.
- » Ouvrir le nombre requis de dispositifs de vitrification, en sachant que 1 dispositif peut contenir 2-3 oocytes dans un volume de charge maximal de 1 µl (consulter les instructions du dispositif utilisé). Placer les différentes parties du dispositif sur la paillasse de façon à pouvoir y accéder facilement à une phase ultérieure de la procédure.
- » La préparation d'une série de milieux permet d'effectuer jusqu'à 5 cycles de vitrification (pour la même patiente). Ne pas utiliser les mêmes milieux pour plusieurs patientes !

### Protocole de refroidissement

- » Amener tous les milieux du kit à température ambiante (22 °C) avant utilisation.
- » Les oocytes sont exposés successivement aux milieux suivants :

	PI	C1	C2	C3	C4	C5
DMSO/EG (%)	0	1.25	2.5	5	10	20
	2 min.	3 min.	3 min.	3 min.	5-6 min.	60 sec.*

\* Remarque : La procédure complète de placement de l'oocyte dans le Cooling 5, de chargement de l'oocyte dans le dispositif de vitrification dans un maximum de 1 µl de C5, d'insertion du dispositif dans la paillette externe et de scellage de la paillette avant de plonger le dispositif dans l'azote liquide ne doit pas prendre plus de 60 secondes.

### Protocole de réchauffement

- » Amener tous les milieux du kit à température ambiante (22 °C) avant utilisation. Exception : amener le milieu Warming 1 à 37 °C avant utilisation (de préférence dans un tube).
- » Les oocytes sont exposés successivement aux milieux suivants :

	W1 (37°C)	W2	W3	W4	W5	W6
Saccharose (M)	1	0.75	0.50	0.25	0.125	0
	1 min.	1 min.	1-2 min.	2 min.	2 min.	1-2 min.*

\* Remarque : Rincer pendant 1-2 min avant le transfert dans le milieu de culture.

## VITRIFICATION D'EMBRYONS (ZYGOTE À BLASTOCYTE) au moyen d'un dispositif fermé

### Étapes préliminaires

» Pour la vitrification d'embryons, les milieux suivants ne sont PAS requis :

- » FertiVit Cooling 1
- » FertiVit Cooling 2
- » 4 cellules à blastocyste : FertiVit Warming 5

» Procédure de refroidissement : Dans une boîte à 6 puits, remplir le premier puit de 250-300 µl de Pre-incubation medium, le deuxième de Cooling 3, le troisième de Cooling 4 et le dernier de Cooling 5.

» Procédure de réchauffement : Dans une boîte à 6 puits, remplir le premier puit de 250-300 µl de Warming 1, le deuxième de Warming 2, le troisième de Warming 3, le quatrième de Warming 4, le cinquième de Warming 5 (uniquement pour les zygotes) et le dernier de Warming 6.

» Ouvrir le nombre requis de dispositifs de vitrification, en sachant que 1 dispositif peut contenir 1-2 embryons dans un volume de charge maximal de 1 µl (consulter les instructions du dispositif utilisé). Placer les différentes parties du dispositif sur la paillasse de façon à pouvoir y accéder facilement à une phase ultérieure de la procédure.

» La préparation d'une série de milieux permet d'effectuer jusqu'à 5 cycles de vitrification (pour la même patiente). Ne pas utiliser les mêmes milieux pour plusieurs patientes !

### Protocole de refroidissement

- » Amener tous les milieux du kit à température ambiante (22 °C) avant utilisation.
- » Les embryons sont exposés successivement aux milieux suivants :

	PI	C3	C4	C5
DMSO/EG (%)	0	5	10	20
Zygotes	2 min.	5 min.	5 min. 30 sec.	40-60 sec.*
4 cellules à blastocyste	2 min.	5 min.	4 min.	40-60 sec.*

\* Remarque : La procédure complète de placement de l'embryon dans le Cooling 5, de chargement de l'embryon dans le dispositif de vitrification dans un maximum 1 µl de C5, d'insertion du dispositif dans la paillette externe et de scellage de la paillette avant de plonger le dispositif dans l'azote liquide ne doit pas prendre plus de 60 secondes.

### Protocole de réchauffement

- » Amener tous les milieux du kit à température ambiante (22°C) avant utilisation. Exception : amener le milieu Warming 1 à 37°C avant utilisation (de préférence dans un tube).
- » Les embryons sont exposés successivement aux milieux suivants :

	W1 (37°C)	W2	W3	W4	W5	W6
Saccharose (M)	1	0.75	0.50	0.25	0.125	0
Zygotes	1 min.	1 min.	1 min.	2 min.	2 min.	1-2 min.*
4 cellules à blastocyste	1 min.	1 min.	1-2 min.	2 min.	1-2 min.*	1-2 min.*

\* Remarque : Rincer pendant 1-2 min avant le transfert dans le milieu de culture .

# FertiVit™ Cooling/Warming Kit

(IT)

Terreno di coltura per la vitrificazione e il riscaldamento degli ovociti e degli embrioni umani fino allo stadio di blastocisti

ID del documento: FP09 I46 03 R01 A.2  
Aggiornamento: 18.04.2016

## USO PREVISTO

Fertivit Cooling e Fertivit Warming sono un set di terreni di coltura per la vitrificazione e il riscaldamento degli ovociti e degli embrioni umani.

## CONTESTO

La vitrificazione degli zigoti e degli embrioni è una tecnica consolidata diventata una pratica standard nell'ambito delle tecnologie di riproduzione assistita (ART). Secondo le normative europee riguardanti i requisiti di sicurezza medica per la crioconservazione delle cellule umane, sono stati sviluppati dei contenitori chiusi ermeticamente (asettici) che evitano il contatto diretto tra l'embrione e l'azoto liquido durante il raffreddamento e la conservazione a lungo termine. Il kit FertiVit Cooling/Warming è progettato per essere idoneo alle velocità ridotte di raffreddamento e necessarie per l'utilizzo di dispositivi per la vitrificazione chiusi (a causa dell'isolamento termico). Recentemente è anche riemerso l'interesse per la crioconservazione degli ovociti dovuto al desiderio di preservare il potenziale di fertilità di donne giovani sottoposte a trattamenti gonadotossici e alla legislazione restrittiva di alcuni Paesi che impedisce la crioconservazione degli embrioni. L'American Society for Reproductive Medicine (ASRM) ha riportato i risultati di una meta-analisi svolta per valutare l'efficacia e la sicurezza della crioconservazione degli ovociti. Sono stati valutati 1200 articoli, inclusi 4 studi randomizzati controllati nei quali si confrontavano gli esiti con ovociti crioconservati e freschi nei cicli IVF/ICSI. Da tali studi è stato concluso, che vi è una buona evidenza che l'esito clinico delle procedure di ART con ovociti freschi è simile a quello con ovociti vitrificati/riscaldati.<sup>1</sup> Tale risultato è stato confermato dai dati clinici ottenuti con il kit FertiVit Cooling/Warming.

## COMPOSIZIONE

I terreni di coltura sono basati su HTF e contengono HEPES, saccarosio e albumina sierica umana (12-20 g/litro). I terreni di raffreddamento contengono inoltre DMSO, glicole etilenico (EG) e Ficoll. I terreni di coltura non contengono antibiotici.

## MATERIALI INCLUSI NEL KIT

Il terreno di coltura contenuto in un kit è sufficiente per circa 3-4 procedure.

**Kit FertiVit Cooling (FVC\_KIT)**

## AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Le misure standard per prevenire infezioni derivanti dall'utilizzo dei medicinali preparati da sangue o plasma umano includono la selezione dei donatori, lo screening di donazioni individuali e delle riserve di plasma per marcatori specifici dell'infezione e l'inclusione di fasi produttive efficaci per l'inattivazione/rimozione dei virus. Ciononostante, quando vengono somministrati medicinali preparati da sangue o plasma umano, la possibilità di trasmettere agenti infettivi non può essere esclusa del tutto. Ciò si applica anche a virus e altri patogeni emergenti o sconosciuti. Non vi sono segnalazioni di trasmissioni comprovate di virus con albumina prodotta secondo le specifiche della Farmacopea Europea mediante processi consolidati. Di conseguenza, è necessario manipolare tutti i campioni come potenzialmente in grado di trasmettere HIV o epatite.

Indossare sempre un abbigliamento protettivo quando si manipolano i campioni. Lavorare sempre rispettando rigoro­se condizioni igieniche (ambiente ISO 5, ad es. cappa a flusso laminare) per evitare una possibile contaminazione. Solo per l'uso previsto. La sicurezza a lungo termine della vitrificazione degli ovociti/embrioni sui bambini nati con tale procedura non è nota.

### METODO

Assicurarsi che tutti i flaconi di terreno di coltura del kit siano ben miscelati prima dell'uso e che siano riscaldati a temperatura ambiente (~22 °C). L'unica eccezione è **Warning 1**, che deve essere riscaldato a 37 °C prima dell'uso. Consigliamo vivamente di leggere attentamente tutte le fasi della procedura di vitrificazione/riscaldamento prima di iniziare la procedura.

#### VITRIFICAZIONE DEGLI OVOCITI con un dispositivo chiuso

#### Fasi preliminari

- Procedura di raffreddamento: In una piastra con 6 pozzetti, riempire il primo pozzetto con 250-300 µl di Pre-incubation medium, il secondo con Cooling 1, il terzo con Cooling 2 e continuare in questo modo fino a Cooling 5.
- Procedura di riscaldamento: In una piastra con 6 pozzetti, riempire il primo pozzetto con 250-300 µl di Warming 1, il secondo con Warming 2, il terzo con Warming 3 e continuare in questo modo fino a Warming 6.
- Aprire il numero necessario di dispositivi per la vitrificazione, considerando che 1 dispositivo può contenere 2-3 ovociti con un carico di volume massimo di 1 µl (controllare le istruzioni del dispositivo in uso). Collocare le diverse componenti del dispositivo in maniera pratica sul banco da lavoro affinché siano facilmente accessibili nelle fasi successive della procedura.
- Con un set di terreni di coltura possono essere condotti fino a 5 cicli di vitrificazione (per lo stesso paziente). Non utilizzare gli stessi terreni di coltura per pazienti diversi.

#### Procedura di raffreddamento

- Riscaldare tutti i terreni di coltura contenuti nel kit a temperatura ambiente (22 °C) prima dell'uso.
- Gli ovociti vanno esposti in sequenza ai seguenti terreni:

	PI	C1	C2	C3	C4	C5
DMSO/EG (%)	0	1.25	2.5	5	10	20
	2 min.	3 min.	3 min.	3 min.	5-6 min.	60 sec.*

\* Nota: L'intera procedura di posizionamento dell'ovocita in "Cooling 5", caricamento dell'ovocita nel dispositivo di vitrificazione in massimo 1 µl di C5, inserimento del dispositivo nella cannula esterna e sigillatura non deve protrarsi per più di 60 secondi prima dell'immersione del dispositivo nell'azoto liquido.

#### Procedura di riscaldamento

- Riscaldare tutti i terreni di coltura contenuti nel kit a temperatura ambiente (22 °C) prima dell'uso. Eccezione: Portare Warming 1 a 37 °C prima dell'uso (preferibilmente in una provetta).
- Gli ovociti vanno esposti in sequenza ai seguenti terreni:

	W1 (37°C)	W2	W3	W4	W5	W6
Saccarosio (M)	1	0.75	0.50	0.25	0.125	0
	1 min.	1 min.	1-2 min.	2 min.	2 min.	1-2 min.*

\* Nota: Lavare per 1-2 minuti prima del trasferimento nel terreno di coltura.

#### VITRIFICAZIONE DEGLI EMBRIONI (DA ZIGOTI A BLASTOCISTI) con un dispositivo chiuso

#### Fasi preliminari

- Per la vitrificazione degli embrioni, NON sono necessari i seguenti terreni di coltura:
  - FertiVit Cooling 1
  - FertiVit Cooling 2
  - Dalla fase a 4 cellule fino alla blastocisti: FertiVit Warming 5
- Procedura di raffreddamento: In una piastra con 6 pozzetti, riempire il primo pozzetto con 250-300 µl di Pre-incubation medium, il secondo con Cooling 3, il terzo con Cooling 4 e l'ultimo con Cooling 5.
- Procedura di riscaldamento: In una piastra con 6 pozzetti, riempire il primo pozzetto con 250-300 µl di Warming 1, il secondo con Warming 2, il terzo con Warming 3, il quarto con Warming 4, il quinto con Warming 5 (solo per gli zigoti) e l'ultimo con Warming 6.
- Aprire il numero necessario di dispositivi per la vitrificazione, considerando che 1 dispositivo può contenere 1-2 embrioni con un carico di volume massimo di 1 µl (controllare le istruzioni del dispositivo in uso). Collocare le diverse componenti del dispositivo in maniera pratica sul banco da lavoro affinché siano facilmente accessibili nelle fasi successive della procedura.
- Con un set di terreni di coltura possono essere condotti fino a 5 cicli di vitrificazione (per lo stesso paziente). Non utilizzare gli stessi terreni di coltura per pazienti diversi.

#### Procedura di raffreddamento

- Riscaldare tutti i terreni di coltura contenuti nel kit a temperatura ambiente (22 °C) prima dell'uso.
- Gli embrioni vanno esposti in sequenza ai seguenti terreni:

	PI	C3	C4	C5
DMSO/EG (%)	0	5	10	20
Zigoti	2 min.	5 min.	5 min. 30 sec.	40-60 sec.*
Da fase a 4 cellule a blastocisti	2 min.	5 min.	4 min.	40-60 sec.*

\* Nota: L'intera procedura di posizionamento dell'embrione in "Cooling 5", caricamento dell'embrione nel dispositivo di vitrificazione in massimo 1 µl di C5, inserimento del dispositvo nella cannula esterna e sigillatura non deve protrarsi per più di 60 secondi prima dell'immersione del dispositivo nell'azoto liquido.

#### Procedura di riscaldamento

- Riscaldare tutti i terreni di coltura contenuti nel kit a temperatura ambiente (22 °C) prima dell'uso. Eccezione: Portare Warming 1 a 37 °C prima dell'uso (preferibilmente in una provetta).
- Gli embrioni vanno esposti in sequenza ai seguenti terreni:

	W1 (37°C)	W2	W3	W4	W5	W6
Saccarosio (M)	1	0.75	0.50	0.25	0.125	0
Zigotes	1 min.	1 min.	2 min.	2 min.	2 min.	1-2 min.*
Da fase a 4 cellule a blastocisti	1 min.	1 min.	1-2 min.	2 min.	<span style="border: 1px solid black; display: inline-block; width: 1em; height: 1em;"></span>	1-2 min.*

\* Nota: Lavare per 1-2 minuti prima del trasferimento nel terreno di coltura.

## BIBLIOGRAPHY / BIBLIOGRAPHIE BIBLIOGRAFIA / BIBLIOGRAFIA

## FertiVit™ Cooling/Warming Kit

### Medios para vitrificación y calentamiento de ovocitos y embriones humanos hasta el estadio del blastocisto

ID de documento: FP09 I46 03 R01 A.2
Actualización: 18.04.2016

### USO PREVISTO

FertiVit Cooling y FertiVit Warming sono un conjunto de medios para vitrificación y calentamiento de ovocitos y embriones humanos.

### ANTECEDENTES

La vitrificación de cigotos y embriones es una técnica establecida que se ha convertido en práctica estándar en el marco de ART. A raíz de los reglamentos europeos que definen los requerimientos de seguridad médica para la criopreservación de células humanas, se han creado envases herméticos (asépticos) para evitar el contacto directo entre el embrión y el nitrógeno líquido durante la refrigeración y el almacenamiento a largo plazo. El FertiVit Cooling/Warming kit está diseñado para proporcionar un buen funcionamiento con las tasas reducidas de refrigeración inherentes al uso de dispositivos cerrados de vitrificación (debidas al aislamiento térmico). En los últimos años, también ha resurgido el interés en la criopreservación de ovocitos a raíz del deseo de preservar el potencial de fertilidad en mujeres jóvenes que se someten a tratamientos gonadotóxicos y de leyes restrictivas que prohíben la criopreservación de embriones en algunos países. La Sociedad Americana de Medicina Reproductiva (ASRM, por sus siglas en inglés) informó los resultados de un metaanálisis para evaluar la eficacia e inocuidad de la criopreservación de ovocitos. Se evaluaron 1200 artículos, incluidos 4 ensayos controlados aleatorios en los que se compararon los resultados con ovocitos criopreservados y frescos en ciclos de IVF/ICSI. A partir de estos estudios, se concluyó que existen evidencias sólidas de que el resultado clínico es similar para los procedimientos de ART con ovocitos frescos comparados con los ovocitos vitrificados/calentados.<sup>1</sup> Este hallazgo ha sido confirmado por los datos clínicos obtenidos con el FertiVit Cooling/Warming kit.

### COMPOSICIÓN

Los medios contienen HTF, HEPES, Sacaros y Albúmina de suero humano (12-20 g/litro). Los medios de refrigeración también contienen DMSO, etilenglicol (EG) y ficol. Ninguno de los medios contiene antibióticos.

### MATERIAL SUMINISTRADO CON EL KIT

Un kit proporciona medio suficiente para aproximadamente 3 o 4 procedimientos.

**FertiVit Cooling Kit (FVC\_KIT)** contiene un frasco de cada uno de los siguientes medios:

- Código del producto FPI005: 5 ml de medio de preincubación (PI)
- Código del producto FVC1001: 1 ml de Cooling 1 (+C1-)
- Código del producto FVC2001: 1 ml de Cooling 2 (+C2-)
- Código del producto FVC3001: 1 ml de Cooling 3 (+C3-)
- Código del producto FVC4001: 1 ml de Cooling 4 (+C4-)
- Código del producto FVC5001: 1 ml de Cooling 5 (+C5-)

**FertiVit Warming Kit (FWW\_KIT)** contiene un frasco de cada uno de los siguientes medios:

- Código del producto FWV1005: 5 ml de Warming 1 (+W1-)
- Código del producto FWV2001: 1 ml de Warming 2 (+W2-)
- Código del producto FWV3001: 1 ml de Warming 3 (+W3-)
- Código del producto FWV4001: 1 ml de Warming 4 (+W4-)
- Código del producto FWV5001: 1 ml de Warming 5 (+W5-)
- Código del producto FWV6001: 1 ml de Warming 6 (+W6-)

Los medios deben utilizarse en el orden en que se indica arriba (los frascos pueden estar en distinto orden en la caja).

### MATERIAL NO SUMINISTRADO CON EL KIT

- Placas de pocillos
- Tanque de congelación con nitrógeno líquido
- Baño de agua (con capacidad para resistir 37 °C)
- Pipetas atenuadas
- Fórceps
- Dispositivo cerrado de vitrificación (por ejemplo, tubos HSV [Cryo Bio System] o VitriSafe)
- Cabina de flujo laminar (ISO clase 5), microscopio, cronómetro de laboratorio

### FERTIVIT COOLING/WARMING KIT Y CULTIVO DE EMBRIONES

El FertiVit Cooling/Warming kit junto con los medios GAIN, FertiCult IVF y FertiCult Flushing (FertiPro) para cultivar y lavar ovocitos y embriones antes de la vitrificación y después del calentamiento.

### ESPECIFICACIONES DEL PRODUCTO

- Composición química
- pH: 7,20 – 7,50 (criterios de liberación: 7,20-7,40)
- Osmolalidad (mOsm/kg):
  - Preincubación / Warming 6: 270-295 (criterios de liberación: 270-290)
  - Warming 3: 805-865 (criterios de liberación: 805-850)
  - Warming 4: 535-565
  - Warming 5: 405-435
- Esterilidad: Estéril (SAL 10<sup>-3</sup>)
- Endotoxinas: < 0,25 UE/ml
- Ensayo de embriones de ratón (blastocistos después de 96 horas): ≥ 80 %
- Uso de pH Eur o productos Grado USP, si corresponde
- El certificado de análisis y la ficha de seguridad de materiales (MSDS, por su siglas en inglés) están disponibles bajo solicitud previa

### COMPROBACIONES ANTES DEL USO

- No utilice el producto si se torna turbio o presenta cualquier evidencia de contaminación microbiana.
- No utilice el producto si el precinto del envase está abierto o defectuoso, en el momento de la entrega del producto.

### INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Almacénelo a una temperatura de entre 2 y 8 °C. No lo congele antes de utilizar. Manténgalo alejado de la luz (solar). Los productos se pueden utilizar de forma segura hasta 7 días después de abrirlos si se mantienen las condiciones estériles y los productos se almacenan entre 2 y 8 °C. No los utilice después de la fecha de caducidad. Estable después del transporte (máx. 5 días) a temperaturas elevadas (≤37 °C).

- The Practice committees of the ASRM and SART (2013). Mature oocyte cryopreservation: a guideline. Fertility and Sterility 99(1): 37-99.
- Papatheodorou A, Vanderwalmen P, Panagiotidis Y, Kasapi L, Petousis S, Goudakou M, Gullo M, Prapas N, Zikopoulos K, Georgiou I, Prapas Y (2015). O-261-Fresh vs aseptically vitrified oocytes, a prospective observational cohort study. Human Reproduction 30(1).

### ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Las medidas estándar para evitar las infecciones que puedan resultar del uso de productos medicinales preparados con sangre o plasma humanos incluyen la selección de donantes, el análisis de las donaciones individuales y las reservas de plasma para detectar marcadores específicos de infección y la inclusión de pasos de fabricación eficaces para la desactivación/eliminación de virus. A pesar de esto, cuando se administran productos medicinales preparados con sangre o plasma humanos, la posibilidad de transmitir agentes infecciosos no se puede excluir por completo. Esto también se aplica a los virus desconocidos o emergentes y a otros agentes patógenos. No existen informes de transmisiones de virus comprobadas con albumina fabricada según las especificaciones de la Farmacopea Europea por medio de procesos establecidos. Por tanto, manipule todas las muestras como si fueran capaces de transmitir el VIH o la hepatitis.

Siempre use vestimenta de protección cuando manipule las muestras. Siempre trabaje en estrictas condiciones de higiene (por ejemplo, cabina de flujo laminar ISO clase 5) para evitar una posible contaminación. Solo para el uso previsto. Se desconoce la inocuidad a largo plazo de la vitrificación de ovocitos/embriones en niños nacidos según este procedimiento.

### MÉTODO

Asegúrese de que todos los frascos de medios del kit estén bien mezclados antes de utilizarse y de que se calienten a temperatura ambiente (aproximadamente 22 °C). Una excepción es **Warming 1**, que debe calentarse a 37 °C antes de utilizarse. Recomendamos encarecidamente la lectura detenida de todos los pasos del procedimiento de vitrificación/ calentamiento antes de empezar el mismo.

#### VITRIFICACIÓN DE OVOCIT OS con dispositivo cerrado

#### Pasos preliminares

- Procedimiento de refrigeración: En una placa de 6 pocillos, llene el primer pocillo con 250-300 µl de medio de preincubación, el segundo con Cooling 1, el tercero con Cooling 2, y continúe haciéndolo hasta el Cooling 5.
- Procedimiento de calentamiento: En una placa de 6 pocillos, llene el primer pocillo con 250-300 µl de Warming 1, el segundo con Warming 2, el tercero con Warming 3, y continúe haciéndolo hasta el Warming 6.
- Abra la cantidad necesaria de dispositivos de vitrificación, teniendo en cuenta que 1 dispositivo puede albergar de 2 a 3 ovocitos, con un volumen máximo de carga de 1µl (consulte las instrucciones del dispositivo que esté utilizando). Coloque las partes separadas del dispositivo sobre el banco de trabajo para poder cogerlas fácilmente en pasos posteriores del procedimiento.
- Pueden realizarse hasta 5 ciclos de vitrificación (del mismo paciente) con una configuración de medios. ¡No utilice los mismos medios para distintos pacientes!

#### Protocolo de refrigeración

- Caliente todos los medios del kit a temperatura ambiente (22 °C) antes de utilizarlos.
- Los ovocitos se exponen secuencialmente a los siguientes medios:

	PI	C1	C2	C3	C4	C5
DMSO/EG (%)	0	1.25	2.5	5	10	20
	2 min.	3 min.	3 min.	3 min.	5-6 min.	60 sec.*

\* Nota: El proceso completo de colocar el ovocito en "Cooling 5", cargar el ovocito en el dispositivo de vitrificación con un máximo de 1µl C5, insertar el dispositivo en el tubo externo y sellarlo no debería durar más de 60 segundos antes de sumergir el dispositivo en el nitrógeno líquido.

#### Protocolo de calentamiento

- Caliente todos los medios del kit a temperatura ambiente (22 °C) antes de utilizarlos. Excepción: Lieve Warming 1 a 37 °C antes de utilizarlo (preferentemente en un tubo).
- Los ovocitos se exponen secuencialmente a los siguientes medios:

	W1 (37°C)	W2	W3	W4	W5	W6
Sacarosa (M)	1	0.75	0.50	0.25	0.125	0
	1 min.	1 min.	1-2 min.	2 min.	2 min.	1-2 min.*

\* Nota: Lavar durante 1 a 2 minutos antes de transferir al medio de cultivo.

#### VITRIFICACIÓN DE OVOCITOS (CIGOTA A BLASTOCISTO) con dispositivo cerrado

#### Pasos preliminares

- Para la vitrificación de embriones, NO se requieren los siguientes medios:
  - FertiVit Cooling 1
  - FertiVit Cooling 2
  - 4 células hasta Blastocisto: FertiVit Warming 5
- Procedimiento de refrigeración: En una placa de 6 pocillos, llene el primer pocillo con 250-300 µl de medio de preincubación, el segundo con Cooling 3, el tercero con Cooling 4, y el último con Cooling 5.
- Procedimiento de calentamiento: En una placa de 6 pocillos, llene el primer pocillo con 250-300 µl de Warming 1, el segundo con Warming 2, el tercero con Warming 3, el cuarto con Warming 4, el quinto con Warming 5 (solo para cigotos) y el último con Warming 6.
- Abra la cantidad necesaria de dispositivos de vitrificación, teniendo en cuenta que 1 dispositivo puede albergar de 1 a 2 embriones, con un volumen máximo de carga de 1µl (consulte las instrucciones del dispositivo que esté utilizando). Coloque las partes separadas del dispositivo en el banco de trabajo para poder cogerlas fácilmente en pasos posteriores del procedimiento.
- Pueden realizarse hasta 5 ciclos de vitrificación (del mismo paciente) con una configuración de medios. ¡No utilice los mismos medios para distintos pacientes!

#### Protocolo de refrigeración

- Caliente todos los medios del kit a temperatura ambiente (22 °C) antes de utilizarlos.
- Los embriones se exponen secuencialmente a los siguientes medios:

	PI	C3	C4	C5
DMSO/EG (%)	0	5	10	20
Cigotos	2 min.	5 min.	5 min. 30 sec.	40-60 sec.*
4 células hasta Blastocisto	2 min.	5 min.	4 min.	40-60 sec.*

\* Nota: El proceso completo de colocar el embrión en "Cooling 5", cargar el embrión en el dispositivo de vitrificación con un máximo de 1µl C5, insertar el dispositivo en el tubo externo y sellarlo no debería durar más de 60 segundos antes de sumergir el dispositivo en el nitrógeno líquido.

#### Protocolo de calentamiento

- Caliente todos los medios del kit a temperatura ambiente (22 °C) antes de utilizarlos. Excepción: Lieve Warming 1 a 37 °C antes de utilizarlo (preferentemente en un tubo).
- Los embriones se exponen secuencialmente a los siguientes medios:

	W1 (37°C)	W2	W3	W4	W5	W6
Sacarosa (M)	1	0.75	0.50	0.25	0.125	0
Cigotos	1 min.	1 min.	1 min.	2 min.	2 min.	1-2 min.*
4 células hasta Blastocisto	1 min.	1 min.	1-2 min.	2 min.	<span style="border: 1px solid black; display: inline-block; width: 1em; height: 1em;"></span>	1-2 min.*

\* Nota: Lavar durante 1 a 2 minutos antes de transferir al medio de cultivo.

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

## FertiVit™ Cooling/Warming Kit

### Medien für die Vitrifizierung und Erwärmung menschlicher Oozyten und Embryos bis zum Blastozystenstadium

Dokumentenkennung: FP09 I46 03 R01 A.2
Aktualisiert am: 18.04.2016

### VORGESEHENE VERWENDUNG

FertiVit Cooling und FertiVit Warming sind Medien für die Vitrifizierung und Erwärmung menschlicher Oozyten und Embryos.

### HINTERGRUND

Die Vitrifizierung von Zygoten und Embryos hat sich als Standardpraxis bei den aktuell üblichen Verfahren etabliert. Aufgrund der europäischen Verordnungen über die medizinischen Sicherheitsanforderungen zur Kryokonservierung menschlicher Zellen wurden hermetisch geschlossene (aseptische) Behälter entwickelt, bei denen ein direkter Kontakt zwischen dem Embryo und dem Flüssigstickstoff im Rahmen der Kühlung und der langfristigen Aufbewahrung vermieden wird. Das FertiVit Cooling / Warming Kit ist auf die reduzierten Abkühlgeschwindigkeiten von geschlossenen Vitrifizierungsvorrichtungen (aufgrund der Thermoisolierung) abgestimmt. In den letzten Jahres wuchs das Interesse an der Kryokonservierung von Oozyten aufgrund des Wunsches, das Fruchtbarkeitspotenzial junger Frauen zu erhalten, die einer für die Keimrürsen toxischen Behandlung unterzogen werden. Ein weiterer Beweggrund sind die restriktiven Rechtsvorschriften in bestimmten Ländern, in denen die Kryokonservierung von Embryos untersagt wird. Die American Society for Reproductive Medicine (ASRM) berichtete über die Ergebnisse einer Metaanalyse zur Evaluierung der Wirksamkeit und der Sicherheit der Kryokonservierung von Oozyten. 1200 Artikel wurden evaluiert, darunter 4 randomisierte kontrollierte Studien, in deren Rahmen die Ergebnisse mit kryokonservierten und frischen Oozyten in IVF/ICSI-Zyklen verglichen wurden. Aus diesen Studien wurde abgeleitet, dass es Anhaltspunkte dafür gibt, dass das klinische Ergebnis üblicher Verfahren mit frischen Oozyten ähnlich ist, wie bei Verfahren mit vitrifizierten/erwärmten Oozyten.<sup>1</sup> Dieses Ergebnis wurde durch klinische Daten bestätigt, die mit dem FertiVit Cooling/Warming Kit erzielt wurden.

### ZUSAMMENSETZUNG

Die Medien sind HTF-basiert und enthalten HEPES, Saccharose und Humanalbumin (12-20 g/Liter). Die Kühlmedien enthalten ebenfalls DMSO, Ethylenglycol (EG) und Ficoll. Die Medien enthalten keine Antibiotika.

### IM KIT ENTHALTENES MATERIAL

Ein Kit verfügt über ausreichend Medium für ungefähr 3-4 Verfahren.

**FertiVit Cooling kit (FVC\_KIT)** enthält ie eine Flasche mit den folgenden Medien:

- Produktcode FPI005: 5 ml Medium zur Präinkubation ("PI")
- Produktcode FVC1001: 1 ml Cooling 1 ("C1")
- Produktcode FVC2001: 1 ml Cooling 2 ("C2")
- Produktcode FVC3001: 1 ml Cooling 3 ("C3")
- Produktcode FVC4001: 1 ml Cooling 4 ("C4")
- Produktcode FVC5001: 1 ml Cooling 5 ("C5")

**FertiVit Warming kit (FWW\_KIT)** enthält ie eine Flasche mit den folgenden Medien:

- Produktcode FWV1005: 5 ml Warming 1 ("W1")
- Produktcode FWV2001: 1 ml Warming 2 ("W2")
- Produktcode FWV3001: 1 ml Warming 3 ("W3")
- Produktcode FWV4001: 1 ml Warming 4 ("W4")
- Produktcode FWV5001: 1 ml Warming 5 ("W5")
- Produktcode FWV6001: 1 ml Warming 6 ("W6")

Die Medien sollten in der vorstehend aufgeführten Reihenfolge verwendet werden (die Flaschen können in der Box in einer anderen Reihenfolge angeordnet sein).

### NICHT IM KIT ENTHALTENES MATERIAL

- Zellkulturschalen mit Kavitäten
- Einfriertank mit Flüssigstickstoff
- Wasserbad (eingestellt auf stabile 37°C)
- Attenuierte Pipetten
- Pinzette
- Geschlossene Vitrifizierungsvorrichtung (z. B. HSV-Straws (Cryo Bio System) oder VitriSafe)
- LAF-Sterilbank (ISO-Klasse 5), Mikroskop, Stoppuhr

### FERTIVIT COOLING/WARMING KIT UND DIE EMBRYOKULTUR

Das FertiVit Cooling / Warming Kit kann in Kombination mit GAIN, FertiCult IVF-Medium und FertiCult Flushing-Medium (FertiPro) zur Kultivierung und Reinigung von Oozyten und Embryos vor der Vitrifizierung und nach der Erwärmung verwendet werden.

### PRODUKTSPEZIFIKATIONEN

- Chemische Zusammensetzung
- pH-Wert: 7,20 – 7,50 (Freigabekriterien: 7,20-7,40)
- Osmolalität (mOsm/kg):
  - Präinkubation / Warming 6: 270-295 (Freigabekriterien: 270-290)
  - Warming 3: 805-865 (Freigabekriterien: 805-850)
  - Warming 4: 535-565
  - Warming 5: 405-435
- Sterilität: Steril (SAL 10<sup>-3</sup>)
- Endotoxine: < 0,25 EU/ml
- Maus-Embryo-Test (Blastozysten pro 96 Stunden Kultur): ≥ 80 %
- Verwendung von PhEur oder USP-Qualitätsprodukten, falls zutreffend
- Analysezertifikate und Material sicherheitsdatenblätter sind auf Anfrage erhältlich