

Modified Sperm Washing Medium

Catalog No. 9984

100 mL, 12 x 12 mL Kits

For sperm washing procedures.

Für Samenwaschenverfahren.

Per procedure di sciacquo di sperma.

Para procesos de lavado de esperma.

Pour le lavage du sperme.

Para procedimentos de lavagem de esperma.



Irvine**Scientific**[®]

INTENDED USE

Modified Sperm Washing Medium is intended for use in assisted reproductive procedures which include gamete and embryo manipulation. These procedures include the use of this medium for sperm washing.

PRODUCT DESCRIPTION

This medium is a modification of Modified Human Tubal Fluid supplemented with protein and containing the following components:

- Sodium Chloride
- Potassium Chloride
- Magnesium Sulfate, Anhydrous
- Potassium Phosphate, Monobasic
- Calcium Chloride, Anhydrous
- Sodium Bicarbonate
- HEPES
- Glucose
- Sodium Pyruvate
- Sodium Lactate
- Phenol Red
- Bovine Albumin

QUALITY ASSURANCE

Modified Sperm Washing Medium is a culture medium which is membrane filtered and aseptically processed according to manufacturing procedures which have been validated to meet a sterility assurance level (SAL) of 10^{-3} .

Each lot of Modified Sperm Washing Medium is tested for:

- Endotoxin by LAL methodology
- Biocompatibility by Mouse Embryo Assay
- Sterility by the current USP Sterility Test <71>

All results are provided on a lot-specific Certificate of Analysis, which is available upon request.

BUFFER SYSTEM

Modified Sperm Washing Medium uses a buffering system composed of a 21 mM HEPES (N-2-Hydroxyethylpiperazine-N'-2-ethanesulfonic acid) and 4 mM Sodium Bicarbonate combination. This buffering system provides optimum pH maintenance over the physiologic range (7.2 to 7.4) and does not require the use of a CO₂ incubator.

PROTEIN SUPPLEMENTATION

Modified Sperm Washing Medium contains 5 mg/mL bovine albumin.

DIRECTIONS FOR USE

The following is a general procedure for washing sperm from its surrounding seminal fluid.

1. Bring medium to room temperature or 37°C.

(NOTE: Modified Sperm Washing Medium should be tightly capped when used in a CO₂ incubator to avoid pH levels of 7.0 or less.)

2. Allow the semen to liquefy at room temperature for 20 to 30 minutes.
3. Using aseptic techniques, transfer the liquefied semen to a sterile 10 mL conical centrifuge tube and add 2 to 3 volumes of room temperature Sperm Washing or Modified Sperm Washing Medium (for example, a 2 mL semen sample requires 4 to 6 mL of medium). Should the volume of the sperm medium mixture be greater than 5 mL, divide into two sterile tubes. By minimizing the volume per tube to 4 - 6 mL, the recovery of sperm will be maximized. Samples having high viscosity may require a further processing to ensure total sperm recovery. (See Special Processing Considerations).

4. Centrifuge the tubes at ambient temperature for 10 minutes using a g force of 200 - 300 x g.
5. Using a sterile pipette, remove and discard the supernatant above the "sperm pellet" by aspiration. The sperm should then be resuspended by gently flicking the tube externally with the index finger. (Note: Do not use a vortex mixer for this step). Resuspend the sperm in 1 to 2 mL of fresh medium, recap and gently mix by inversion. Samples which were fractionated for the first centrifugation step should now be recombined into one tube.
6. Recentrifuge as in Step 4.
7. Using a sterile pipette, remove and discard the supernatant and resuspend the sperm pellet gently by manual agitation. Add fresh medium to a final volume of 0.5 mL. The sperm are ready for assisted reproductive procedures. (Note: The total volume of the nongravid uterus is 0.25 - 0.50 mL).

SPECIAL PROCESSING CONSIDERATIONS

Processing the highly viscous sample:

Some samples are naturally highly viscous even after liquefaction. These samples have the consistency of heavy syrup and may be difficult to process.

1. After the medium is added to an ejaculate, aspirate and expel the mixture gently using an 18 gauge needle and syringe. This will "shear" some of the viscous mucous.
2. Limit the amount of medium-sperm mixture from Step 1 to 5 mL per centrifuge tube for the first centrifugation step.
3. If after preprocessing the sample with the needle and syringe (Step 1), the sperm do not "pellet" in a normal

manner (the sperm will appear as a "cloudy fiber" attached to the bottom of the centrifuge tube), carefully aspirate as much of the supernatant as possible without disrupting the "cloudy sperm fiber" using a sterile needle and syringe. This can be done by keeping the beveled edge of the needle firmly against the wall of the centrifuge tube and slowly start aspiration from the top of the tube downward. When as much of the supernatant as possible has been removed, add 2 or 3 mL of fresh medium. Repeat the process of drawing the mixture through the 18 gauge needle and syringe. Recentrifuge the mixture. The sperm should pellet normally after the second processing.

4. On subsequent sample collections, the patient should be requested to produce a split ejaculate which will minimize the viscosity in the sperm rich portion of the sample.

For additional details on the use of these products, each lab should consult its own laboratory procedures and protocols which have been specifically developed and optimized for the individual medical program.

STORAGE INSTRUCTIONS AND STABILITY

Store the unopened bottles or vials refrigerated at 2° to 8°C.

Do not freeze or expose to temperatures greater than 39°C.

When stored as directed, Modified Sperm Washing Medium is stable until the expiration date shown on the bottle label.

PRECAUTIONS AND WARNINGS

Do not use any bottle or vial of medium which shows evidence of particulate matter, cloudiness or is not a pale salmon color. The optical properties of the bovine albumin makes the medium appear much paler in color than our other products.

To avoid problems with contamination, handle using aseptic techniques and discard any excess medium that remains in the vial after the sperm processing procedure is completed.

Modified Sperm Washing Medium does not contain antibiotics. Antibiotic supplementation may be added just prior to use. Appropriate precautions should be taken to ensure that the patient is not sensitized to the antibiotic of choice.

Hypersensitivity reactions to BSA have been reported in previously sensitized patient undergoing IUI (Fertil Steril 56:1188, 1991).

The bovine source material in this product is derived from animals of U.S. origin.

BESTIMMUNGSZWECK

Veränderter Nährboden zum Samenwaschen ist bestimmt zum Gebrauch in betreuten Fortpflanzungsverfahren, die aus Keimzellen- und Embryobeeinflussung bestehen. Diese Verfahren bestehen aus dem Gebrauch dieses Nährbodens zum Samenwaschen.

PRODUKTBESCHREIBUNG

Dieser Nährboden ist eine Veränderung des Modified Human Tubal Fluid (Verändertes menschliches Tubenflüssigkeit), das durch Protein ergänzt wird, und das aus den folgenden Komponenten besteht:

- Natriumchlorid
- Kaliumchlorid
- Magnesiumsulfat (wasserfrei)
- Kaliumphosphat (monobasisch)
- Calciumchlorid (wasserfrei)
- Natriumbicarbonat
- HEPES
- Glucose
- Natrium-Pyruvat
- Natriumlactat
- Phenol Rot
- Rinder Albumin (BSA)

QUALITAETSSICHERUNG

Nährboden zum Samenwaschen ist ein Kulturnährboden, der durch Membranfilter und aseptische Veredelung nach Produktionsverfahren veredelt wird. Diese Methoden sind bestätigt worden, ein Sterility Assurance Level (SAL) von 10^{-3} zu erfüllen.

Jedes Los vom Nährboden zum Samenwaschen wird für Folgendes erprobt:

- Endotoxin durch LAL Methode
- Biokompatibilität durch Mausembryo Probe.
- Sterilität (durch aktuellen USP Sterility Test <71>)

Alle Ergebnisse werden auf einem Los-spezifischen

Analysenzeugnis berichtet, das auf Anfrage erhältlich ist.

PUFFERSYSTEM

Veränderter Nährboden zum Samenwaschen gebraucht ein Buffersystem, das aus einem 21 mM HEPES (N-2-Hydroxyethylpiperazine-N'-2-ethanesulfonic acid) und einer 4 mM Natriumbicarbonat Kombination besteht. Dieses Buffersystem beschafft optimierte pH-Werterhaltung über dem physiologischen Beriech (7,2 bis 7,4). Ein CO₂ Brutschrank ist nicht nötig.

PROTEINERGAENZUNG

Veränderter Nährboden zum Samenwaschen beinhaltet 5 mg/ml Rinderalbumin.

GEBRAUCHSANLEITUNG

Folgendes ist ein allgemeines Verfahren, um Samen vom umliegenden Samenflüssigkeit wegzuwaschen.

1. Den Nährboden auf Raumtemperatur (37°C) bringen.

(HINWEIS: Veränderter Nährboden zum Samenwaschen soll fest bedeckt sein, falls in einem CO₂ Brutschrank gebraucht, um einen pH-Wert von 7,0 oder weniger zu meiden.)

2. Dass der Samen für 20 bis 30 Minuten bei Raumtemperatur verflüssigt ermöglichen.
3. Den verflüssigten Samen mit aseptischen Methoden in einen sterilen 10 ml konischen Zentrifugenbecher versetzen. Von 2 bis 3 Volumen Nährboden zum Samenwaschen (bei Raumtemperatur) oder Veränderter Nährboden zum Samenwaschen (bei Raumtemperatur) hinzufügen. (Zum Beispiel, ein 2 ml Samenmuster benötigt von 4 bis 6 ml Nährboden.) Falls das Volumen des Nährbodens grösser als 5 ml ist, den Nährboden in zwei sterile Becher abteilen. Durch die Minimierung des pro-Becher-Volumens (Die Anzahl soll 4 – 6 ml

sein) wird die Wiederherstellung des Samens maximiert. Muster mit hoher Viskosität benötigen manchmal weitere Entwicklung, um vollständige Samenwiederherstellung zu sichern.

4. Die Becher für 10 Minuten bei Raumtemperatur mit einer Beschleunigungskraft von 200 bis 300 x g ausschleudern.
5. Den Überstand (der über dem Samenniederschlag ist) mit einer sterilen Pipette durch Aspiration wegnehmen und wegwerfen. Den Becher mit dem Finger behutsam (und äusserlich) schnalzen, um den Samen zu resuspendieren. (Keinen Wirbelmischer bei diesem Schritt gebrauchen.) Den Samen in 1 – 2 ml Nährboden resuspendieren, wieder bedecken, und behutsam durch Umkehrung mischen. Muster jetzt in einen Becher wieder vereinen, die beim Ausschleuderung-Schritt abgeteilt worden sind..
6. Wiederausschleudern, wie bei Schritt 4.
7. Den Überstand mit einer sterilen Pipette wegnehmen und wegwerfen, und den Samenniederschlag behutsam durch manuelle Agitation resuspendieren. Frischen Nährboden zu einem Endvolumen von 0,5 ml hinzufügen. Der Samen ist jetzt zu betrueten Fortpflanzungsverfahren bereit. (HINWEIS: Das Endvolumen von der nichtschwangen Gebärmutter ist 0,25 – 0,50 ml.)

BESONDERE ENTWICKLUNGSERWÄGUNGEN

Um den Muster mit hoher Viskosität zu entwickeln:

Manche Muster haben natürliche hohe Viskosität, selbst nach der Verflüssigung. Diese Muster haben die Konsistenz von dichtem Zuckersaft und daher sind vielleicht schwierig zu entwickeln.

1. Nachdem der Nährboden zu einem Ejakulat hinzugefügt ist, die Mischung behutsam mit einer Kanüle Nr. 18 und Spritze

aspirieren und ausstossen. Dieser Schritt wird ein Teil des viskosen Schleims "schälen."

2. Beim ersten Ausschleuderung-Schritt soll die Anzahl Nährboden-Samen von Schritt 1 fünf ml pro Zentrifugenbecher oder weniger sein.
3. Falls, nach der Vorentwicklung des Musters mit Nadel und Spritze (Schritt 1), der Samen keinen Niederschlag normalerweise bildet (der Samen wird wie "trübe Faser" scheinen, die unten im Becher fest ist), so viel Überstand wie möglich mit Nadel und Spritze vorsichtig aspirieren, ohne die "trübe Samenfaser" zu stören. Den abgekanteten Rand des Nadels fest gegen die Wand des Zentrifugenbeckers halten. Die Aspiration langsam von oben nach unten anfangen. Wenn so viel Überstand wie möglich weggenommen ist, 2 oder 3 ml frischen Nährboden hinzufügen. Das Verfahren wiederholen, die Mischung durch die Kanüle Nr. 18 und die Spritze zu saugen. Die Mischung wiederausschleudern. Nach der zweiten Entwicklung soll der Samen einen Niederschlag normalerweise bilden.
4. In nachfolgenden Mustersammlungen soll der Patient ein Split-Ejakulat produzieren, das Viskosität im samenreichen Teil des Musters minimieren wird.

Für weitere Einzelheiten zum Gebrauch dieser Produkte, die eigene Laborverfahren des Labors befragen, die für die individuelle medizinische Einrichtung entwickelt und optimiert worden sind.

LAGERBEDINGUNGEN UND STABILITÄT

Die ungeöffneten Flaschen oder Fläschchen bei 2° bis 8° C gekühlt lagern.

Frieren Sie sie nicht oder stellen Sie sie nicht in Temperaturen heraus, die grösser als 39 °C sind.

Veränderter Nährboden zum Samenwaschen ist stabil bis zum Verfalldatum, das auf der Flasche steht, falls wie angewiesen gelagert.

VORSICHTSMASSNAHMEN UND WARNUNGEN

Keine Flasche gebrauchen, die Anzeichen von Schwebstoffe oder Trübheit zeigt, oder die nicht helllachsfarben ist. Wegen der optischen Eigenschaften von Rinderalbumin scheint der Nährboden viel heller als unsere andere Produkte.

Um Kontaminierungsprobleme zu meiden, mit aseptischen Methoden behandeln, und Überschussnährboden wegwerfen, der im Fläschchen übrig bleibt, nachdem das Samenentwicklungsverfahren beendet ist.

Veränderter Nährboden zum Samenwaschen beinhaltet keine Antibiotika. Antibiotische Ergänzung kann genau vor dem Gebrauch hinzugefügt werden. Vorsichtsmassnahmen sollen getroffen werden, um zu sichern, dass der Patient keine Reaktionen gegen das gewählte Antibiotikum haben wird.

Überempfindliche Reaktionen gegen BSA sind in vorsensibilisierten Patienten gemeldet worden, die sich IUI unterziehen (Fertil Steril 56:1188, 1991).

Die Rinderausgangsmaterialien in diesem Produkt sind von Tieren abgeleitet, die aus den Vereinigten Staaten entspringen.

ISTRUZIONI D'USO

Terreno di sciacquo di sperma modificato è indicato per l'uso nelle tecniche di riproduzione assistita che includono la manipolazione di gamete e d'embrione. Queste procedure includono l'uso di questo terreno per la sciacquo di sperma.

DESCRIZIONE DEL PRODOTTO

Questo terreno è una Modificazione di Fluido Tubarico Umano Modificato integrato con proteina e contengono i componenti seguenti:

CLORURO DI SODIO
CLORURO DI POTASSIO
SOLFATO DI MAGNESIO, ANIDRO
FOSFATO DI POTASSIO, MONOBASICO
CLORURO DI CALCIO, ANIDRO
BICARBONATO DI SODIO
HEPES
GLUCOSIO
PIROVATE DI SODIO
LATTATO DI SODIO
FENOLO ROSSO
SIERO DI ALBUMINA BOVINA

ASSICURAZIONE DI QUALITÀ

Terreno di Sciacquo di Sperma modificato è un terreno di filtrato su membrana e preparato in condizione di sterilità in accordo con le procedure prodottivi che sono convalidate per incontrare un livello di sicurezza di sterilità (SAL) di 10^{-3} .

Ogni lotto di Terreno di Sciacquo di Sperma modificato è testato per:
Endotossine con la metodologia LAL
Biocompatibilità in Embrioni di Topo
Sterilità tramite il corrente test di sterilità USP <71>

Tutti i risultati sono riportati in un Certificato d'Analisi specifico per lotto che è disponibile su richiesta.

SISTEMA TAMPONE

Terreno di Sciacquio di Sperma modificato usa sistema tampone è composto di un 21 Mm HEPES (N-2 Hydroxyethylpiperazine-N'-2-ethanesulfonic acido) è una combinazione di Bicarbonato di Sodio di 4 mM. Questo sistema tampone provvede mantenimento optimum di pH attraverso la serie fisiologica (7.2 a 7.4) e non richiede l'uso di un incubatore CO₂.

SUPPLEMENTAZIONE PROTEICA

Terreno di Sciacquio di Sperma Modificato contiene 5 mg/mL albumina bovina.

ISTRUZIONI PER L' USO

La seguente è una procedura generale per sciacquare lo sperma dal suo fluido seminale circostante.

1. Alzare terreno a temperatura ambientale o 37° C.

(Appunto: Terreno di Sciacquio di Sperma deve essere strettamente chiuso quando è usato nel l'incubatore de CO₂ per evitare livelli di pH di 7.0 o di meno)

2. Lasciare liquefare lo sperma a temperatura ambientale per 20 o 30 minuti.
3. In condizioni di sterilità trasferire lo sperma liquefatto ad una provetta centrifugo conico sterilizzato di 10 mL e aggiungere 2 o 3 volume di Terreno di Sciacquio di Sperma o Terreno di Sciacquio di Sperma Modificato a temperatura ambientale(per esempio, un campione di sperma di 2 mL richiede da 4 a 6 mL di terreno). Se per caso il volume del miscuglio di sperma è di più di 5 mL, dividere in due provette sterilizzati. Con il minimizzare del volume per ogni provetta da 4 a 6 mL, il ritrovamento di sperma sara alzato al massimo grado. Campioni che tengono viscosità alta possono richiedere un trattamento in più per assicurare ritrovamento totale di sperma. (Vedi Considerazioni di Trattamenti Speciali).

4. Centrifugare i provetti a temperatura ambientale per 10 minuti applicando una forza g di 200 – 300 g.
5. Usando una pipetta sterilizzata, rimuovere e buttare la materia che galleggia alla superficie su la "tavoletta/pallina di sperma" via aspirazione. Dunque, risospendere lo sperma via colpire gentilmente la provetta esternamente con il dito indice. (Appunto: Non usare mescolatore di vortice per questo passo.) Risospendere lo sperma in 1 – 2 mL di terreno nuovo, coprire e mescolare gentilmente via inversione. Campione che siano sottoposti a distillazione frazionata per il primo passo di centrifugazione, devono essere ricombinati in una provetta.
6. Ricentrifugare come in Passo 4.
7. Usando una pipetta sterilizzata, rimuovere e buttare la materia che galleggia alla superficie e risospendere la tavoletta dello sperma gentilmente via agitazione manuale. Aggiungere il terreno nuovo ad un volume finale di 0.5 mL. Lo sperma sono pronti per le tecniche di riproduzione assistita. (Appunto: Il totale del volume dell'utero nongravido è 0.25 – 0.50 mL).

CONSIDERAZIONI DI TRATTAMENTI SPECIALI

Sottoporre a processo il campione molto viscoso:

Qualsiasi campioni sono naturalmente molto viscosi anche dopo liquefazione. Questi campioni tengono la densità di sciroppo pesante e possono essere difficili per sottoporre al processo.

1. Dopo che il terreno è aggiunto a uno sperma, aspirare e espellere il miscuglio gentilmente usando un'inezione di misura 18 e siringa. Questo "diminuirà" il muco viscoso.
2. Limitare il totale di terreno-sperma da passo 1 a 5 mL per ogni provetta centrifugo per il primo passo di centrifugazione.

3. Se dopo il pretrattamento il campione con l'inezione e la siringa (passo 1), lo sperma non "condensa/impallinare" in una maniera normale (lo sperma apparirà come una "fibra torbida" attaccato al fondo della provetta centrifugo), aspirare attentamente tanto quanto de la materia che galleggia alla superficie che è possibile senza spaccare la "fibra torbida di sperma" usando un'inezione sterilizzata e una siringa. Questo si può fare con il mantenere il punto smussato dell'inezione solidamente presso all'incassatura della provetta centrifugo e lentamente incominciare l'aspirazione da sopra fino a sotto. Aggiungere 2 o 3 mL di terreno nuovo quando tanto della materia che galleggia alla superficie che è possibile è stato rimosso. Ripetere il trattamento di estrarre il miscuglio attraverso l'inezione di misura 18 e la siringa. Recentrifugare il miscuglio. Lo sperma deve "condensare/impallinare" normalmente dopo il secondo trattamento.
4. Durante le raccolte successive di campione, il paziente deve essere richiesto di produrre sperma spaccato che minimizzerà la viscosità della porzione del campione pieno di sperma.

PER MAGGIORI DETTAGLI SULL'USO DI QUESTO PRODOTTO IL LABORATORIO DEVE CONSULTARE IL PROPRIO STANDARD PROCEDURALE E IL PROTOCOLLO CHE È STATO SVILLUPATO E OTTIMIZZATO IN MODO SPECIFICO NEI PROGRAMMI MEDICI INDIVIDUALI.

ISTRUZIONI DI STOCCAGIO E STABILITÀ

Stoccare le bottiglie o fiale refrigerati da 2° C a 8° C.

Non congelare o esporre a temperature alte di 39° C.

Quando vengono stoccate direttamente, Terreno di Sciacquio di Sperma Modificato è stabile fino alla data di scadenza mostrata sulla etichetta della bottiglia.

PRECAUZIONI E AVVERTIMENTI

Non usare nessuna bottiglia o fiala di terreno che evidenzi sostanze particolari, torbidità o se non è di colore salmone pallido. Le caratteristiche ottiche dell'albumina bovina lo fanno apparire il terreno più pallido degli altri prodotti nostri.

Per evitare problemi di contaminazione, maneggiare usando tecniche in asepsi, ed eliminare ogni eccesso di terreno che rimane nella bottiglia dopo che la procedura sarà completata.

Terreno di Sciacquo di Sperma non contiene antibiotici. Integrazione d'antibiotici può essere aggiunta proprio prima dell'uso. Precauzioni appropriate devono essere prese per assicurarsi che i pazienti non siano allergici all'antibiotico scelto.

Reazioni ipersensitivi a BSA sono state riportate in pazienti prima sensibilizzati/allergici subire lo IUI. (Fertil - Steril 56: 1188, 1991).

La raccolta di materia bovina dentro di questo prodotto è derivata dagli animali d'origine dei Stati Uniti(USA).

APLICACIÓN

Diseñado para ser utilizado en técnicas de Reproducción Asistida que incluyen la manipulación de gametos y embriones. Este medio se utiliza para el lavado de esperma.

DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO

Este medio es una modificación del mHTF o "Modified Human Tubal Fluid" suplementado con proteína y que contiene los siguientes compuestos:

- Cloruro sódico
- Cloruro potásico
- Sulfato de Magnesio, anhidro
- Fosfato potásico, monobase
- Cloruro cálcico, anhidro
- Bicarbonato sódico
- HEPES
- Glucosa
- Piruvato sódico
- Lactato sódico
- Rojo fenol
- Albúmina Bovina

CONTROL DE CALIDAD

El medio de Lavado de Esperma Modificado está filtrado a través de membrana y procesado en condiciones de esterilidad siguiendo unos procesos de manufacturación validados para conseguir un nivel de garantía de esterilidad (SAL) de 10^{-3} .

Cada lote de medio de lavado está testado para:

- Endotoxinas, por métodos LAL
- Biocompatibilidad por ensayos en embrión de ratón (MEA)
- Esterilidad, por el test de esterilidad USP <71> actual

Todos los resultados están descritos en el Certificado de Análisis específico de cada lote, el cual se encuentra disponible bajo petición.

SISTEMA DE TAMPONAMIENTO

El Medio de Lavado de Esperma Modificado utiliza una combinación de 21mM HEPES (N-2-hidroxietilpiperazina-N'-2-ácido etanesulfónico) y 4mM de bicarbonato sódico como sistema tampón. Este sistema proporciona un mantenimiento óptimo del pH en el rango fisiológico (7,2-7,4) y no necesita ser utilizado en un incubador de CO₂.

SUPLEMENTO PROTEICO

El Medio de Lavado de Esperma Modificado contiene 5 mg/mL de albúmina bovina.

INSTRUCCIONES DE USO

El protocolo descrito a continuación es un protocolo general para lavar el espermatozoides del fluido seminal que le rodea.

1. Atemperar un vial de medio a temperatura ambiente ó a 37°C.

(NOTA: Los viales de Medio de Lavado de Esperma deben estar herméticamente cerrados si se utilizan en un incubador de CO₂ para evitar valores de pH de 7 ó inferiores).

2. Permitir la licuación del semen manteniéndolo a temperatura ambiente de 20 a 30 minutos
3. En condiciones de esterilidad, transferir el semen licuado a un tubo cónico de centrifuga y añadir de 2 a 3 volúmenes de Medio de Lavado de Esperma, o de Medio de Lavado de Esperma Modificado, a temperatura ambiente (p.ej. a 2 mL de semen, añadir de 4 a 6 mL de medio). Si el volumen final es superior a 5mL, repartir entre dos tubos estériles. Minimizando el volumen por tubo a 4-6 mL se optimiza la recuperación de espermatozoides. Las muestras con alta viscosidad pueden necesitar otros pasos adicionales de procesado para garantizar una recuperación total del espermatozoides (ver "Consideraciones Especiales del Protocolo").

4. Centrifugar los tubos a temperatura ambiente durante 10 min a 200-300 x g.
5. Utilizando una pipeta estéril, aspirar y descartar el sobrenadante . Resuspender el "precipitado" con golpes suaves de los dedos (NOTA: no usar vórtex en este paso del proceso). Resuspender el esperma en 1-2 mL de medio fresco, tapar otra vez y mezclar suavemente por inversión. Las muestras que se fraccionaron para el primer centrifugado deben mezclarse otra vez en un tubo único.
6. Centrifugar como en el paso 4.
7. Utilizando una pipeta estéril, aspirar y descartar el sobrenadante. Resuspender el sedimento por agitación manual. Añadir medio fresco hasta un volumen final de 0.5mL. El esperma está listo para los procedimientos de Reproducción Asistida (NOTA: el volumen total del útero no grávido es de 0.25 – 0.50 mL).

CONSIDERACIONES ESPECIALES DEL PROTOCOLO

Procesamiento de muestras de elevada viscosidad:

Algunas muestras son de naturaleza muy viscosa incluso después de la licuación. Estas muestras tienen la consistencia de un jarabe concentrado y pueden ser difíciles de procesar.

1. Después de añadir el medio al eyaculado, aspirar y expeler la mezcla suavemente con una jeringa y una aguja del calibre 18. Esto debería deshacer algo las mucosidades más viscosas.
2. Limitar la cantidad de mezcla medio-semen del paso 1 (instrucciones de uso) a 5mL por tubo de centrifuga en el primer paso de centrifugado.

3. Si después de procesar la muestra con la jeringa (paso 1), el esperma no sedimenta de manera normal sino que aparece como una "fibra turbia" pegada al fondo del tubo de centrifuga, aspirar todo el sobrenadante que sea posible sin alterar la "fibra de esperma" utilizando una jeringa y una aguja estériles. Para ello, mantener el lado biselado de la aguja fijo contra la pared del tubo y empezar a aspirar lentamente desde la superficie del sobrenadante hacia abajo. Cuando se ha descartado la mayor cantidad posible, añadir 2 o 3 mL de medio fresco. Repetir el proceso de aspirado de la mezcla a través de jeringa con una aguja del 18. Recentrifugar la mezcla. El esperma debería sedimentar correctamente después del segundo procesamiento.
4. En recolecciones sucesivas de muestra, se debería recomendar al paciente producir un eyaculado fraccionado lo cual minimiza la viscosidad en la fracción rica de esperma de la muestra.

Para más detalles sobre la utilización de este producto, consulte los protocolos de trabajo de su propio laboratorio, los cuales han sido desarrollados y especialmente optimizados de acuerdo a su programa médico particular.

INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Conserve los viales o botellas no abiertos refrigerados a 2-8°C.

No congele ni exponga a temperaturas superiores a 39°C.

El Medio de Lavado de Esperma Modificado es estable hasta la fecha indicada en el envase, siempre que se conserve de acuerdo a las instrucciones recomendadas.

PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

No utilice ninguna botella ni vial de medio con evidencias de contener partículas, turbidez o que su color no sea salmón pálido. Las propiedades ópticas de la albúmina bovina hacen que este medio tenga un color mucho más pálido que el resto de nuestros productos.

Para evitar problemas de contaminación, es necesario manipular el producto en condiciones de esterilidad y descartar el medio sobrante que quede en el envase al terminar cada proceso.

El Medio de Lavado de Esperma Modificado no contiene antibióticos. La adición de antibiótico debe llevarse a cabo justo antes de su utilización. Es conveniente adoptar las medidas necesarias para garantizar que la paciente no es sensible al antibiótico elegido.

Se han descrito reacciones de hipersensibilidad a la BSA en pacientes previamente sensibilizadas a las que se realiza una IUI (Fertil Steril 56:1188, 1991).

En este producto la fuente del material bovino deriva de animales con origen en EEUU.

UTILISATION

Le milieu de lavage du sperme modifié est destiné à être utilisé pour la manipulation des gamètes et des embryons lors des procédés de procréation médicalement assistée. Ce qui comprend l'utilisation de ce milieu pour le lavage du sperme.

DESCRIPTION DU PRODUIT

Ce milieu est une modification du milieu 'Fluide Tubulaire Humain modifié' supplémenté en protéines et contenant les composants suivants :

Chlorure de Sodium
Chlorure de Potassium
Sulfate de Magnésium, anhydre
Phosphate de Potassium, monobasique
Chlorure de Calcium, anhydre
Bicarbonate de Sodium
HEPES
Glucose
Pyruvate de Sodium
Lactate de Sodium
Rouge de Phénol
Albumine Bovine

ASSURANCE QUALITÉ

Le milieu de lavage du sperme est un milieu de culture stérilisé par filtration et manipulée de façon aseptique selon des procédures de fabrication qui répondent au niveau 10^{-3} de stérilité (Sterility Assurance Level).

Chaque lot du milieu de lavage du sperme a subi les tests suivants :

Le contenu en endotoxines par la méthode LAL.
Test de bio-compatibilité par le test des embryons de souris.
Stérilité par les tests de stérilité courants de la pharmacopée américaine (USP) <71>

Les résultats de ces tests sont disponibles dans un certificat d'analyses spécifique à chaque lot et mis à disposition sur demande.

SYSTÈME TAMPON

Le milieu de lavage du sperme utilise un système tampon composé de la combinaison de 21mM HEPES (N-2-Hydroxyethylpiperazine-N'-2-ethanesulfonic acid) et de 4mM bicarbonate de sodium. Ce système tampon offre un maintien optimum d'un pH d'ordre physiologique (7,2 à 7,4) et ne nécessite pas l'utilisation d'une étuve à CO₂.

ADDITION DE PROTÉINES

Le milieu de lavage du sperme modifié contient 5 mg/ml d'albumine bovine.

CONSEILS D'UTILISATION

Ci-dessous une méthode de lavage des spermatozoïdes du liquide séminal les baignant.

1. Préchauffer le milieu à température ambiante ou à 37°C

(Remarque : le milieu de lavage de sperme doit être bien fermé lors de l'utilisation d'une étuve à CO₂ pour éviter la baisse du pH à 7,0 ou moins)

2. Permettre au sperme de se liquéfier à température ambiante pendant 20 à 30 minutes.
3. En utilisant des techniques de maintien d'asepsie, transférer le sperme liquéfié dans un tube conique stérile de 10 ml, ajouter 2 à 3 volumes de milieu de lavage du sperme porté à température ambiante (par exemple, un échantillon de sperme de 2 ml nécessite 4 à 6 ml de milieu). Si le volume du mélange sperme et milieu de lavage dépasse 5 ml, le répartir entre deux tubes stériles. En minimisant le volume à 4-6 ml, la récupération des spermatozoïdes sera maximale. Les échantillons de sperme à viscosité élevée pourraient nécessiter plus de traitement pour garantir une totale récupération des spermatozoïdes (cf. considérations particulières).

4. Centrifuger les tubes à température ambiante pendant 10 minutes en utilisant une force g entre 200 et 300 x g .
5. En utilisant une pipette aspirer le surnageant et le jeter. Le culot de centrifugation doit être resuspendu en tapant doucement avec l'index sur le tube (Remarque : ne pas utiliser de Vortex à cette étape). Resuspendre le culot de centrifugation dans 1 à 2 ml de milieu frais, bouchonner et mélanger en retournant doucement le tube. Les échantillons ayant été fractionné lors de la première étape de centrifugation peuvent être regroupés dans un seul tube.
6. Centrifuger comme dans l'étape 4
7. En utilisant une pipette aspirer le surnageant, l'éliminer et resuspendre le culot de centrifugation par agitation manuelle douce. Ajouter du milieu frais jusqu'à atteindre un volume final de 0,5 ml ; Le sperme est maintenant prêt pour les procédés de procréation assistée (Remarque : le volume total de l'utérus non gravide est de 0,25 à 0,50 ml).

CONSIDÉRATIONS PARTICULIÈRES

Traitement de prélèvements à viscosité élevée :

Certains prélèvements sont naturellement très visqueux même après liquéfaction. Ils ont la consistance de sirop lourd et peuvent être difficiles à traiter.

1. Après addition du milieu à un éjaculat, en utilisant une seringue et une aiguille 18G, aspirer et refouler le mélange. Ceci "cassera" une partie du mucus visqueux.
2. Réduire le volume du mélange sperme-milieu de l'étape 1 à 5 ml par tube pour la première centrifugation.

3. Si après avoir traité le prélèvement avec une seringue et une aiguille (étape 1) le sperme ne forme pas un "culot centrifugation" normal (qui apparaît comme des fibres troubles attachées au fond du tube), soigneusement aspirer le plus de surnageant possible sans troubler les "fibres" en utilisant une seringue et une aiguille. Ceci peut être achevé en maintenant le chanfrein de l'aiguille fermement contre la paroi du tube en aspirant lentement le surnageant du haut vers le bas du tube. Après avoir éliminer le plus possible de surnageant, ajouter 2 à 3 ml de milieu. Aspirer et refouler le mélange sperme-milieu à l'aide d'une seringue et une aiguille 18G. Centrifuger le mélange. Le sperme devrait former un culot de centrifugation normal après ce deuxième traitement.
4. Pour des prélèvements ultérieurs, il faut demander au patient de recueillir l'éjaculat en plusieurs fractions pour réduire la viscosité de la fraction riche en spermatozoïdes.

Pour plus de détails sur l'utilisation de ce produit, chaque laboratoire doit consulter ses propres procédures et protocoles spécialement développés et optimisés pour chaque programme médical particulier.

CONSIGNES DE CONSERVATION ET STABILITÉ

Conserver les flacons et les fioles non entamés réfrigérés entre 2 et 8°C.

Ne pas congeler ou exposer à des températures supérieures à 39°C.

Conservé comme indiqué ci-dessus, le milieu de lavage du sperme modifié est stable jusqu'à la date d'expiration indiquée sur les étiquettes des flacons.

PRÉCAUTIONS ET MISE EN GARDE

Ne pas utiliser ce milieu s'il contient des particules, s'il est trouble ou s'il n'est pas de couleur saumon pâle. Les propriétés optiques de l'albumine bovine font que la couleur du milieu apparaît plus pâle que celle de nos autres produits.

Pour éviter les problèmes de contamination, manipuler stérilement et ne pas réutiliser l'excès du milieu restant au fond des flacons à la fin de la procédure du lavage du sperme.

Ce milieu ne contient pas d'antibiotique. Les antibiotiques peuvent être ajoutés juste avant l'utilisation. Les précautions d'usage doivent être prises pour s'assurer que les patients ne présentent aucune sensibilité aux antibiotiques choisis.

Une réaction d'hypersensibilité au BSA a été rapportée chez des patientes subissant une insémination intra-utérine (Fertil Steril 56 : 1188, 1991).

L'albumine bovine contenue dans ce produit est produite à partir de matière première provenant d'animaux d'origine américaine.

APLICAÇÃO

O meio de lavagem de espermatozoides modificado foi concebido para ser utilizado em procedimentos de reprodução assistida que incluem a manipulação dos gametas e do embrião. Estes procedimentos incluem este meio para a lavagem de espermatozoides.

DESCRIÇÃO DO PRODUTO

Este meio é uma modificação do fluido tubário humano modificado suplementado com proteínas, e contém os seguintes compostos:

- Cloreto de sódio
- Cloreto de potássio
- Sulfato de magnésio anidro
- Fosfato de potássio monobásico
- Cloreto de cálcio anidro
- Bicarbonato de sódio
- HEPES
- Glucose
- Piruvato de sódio
- Lactose de sódio
- Fenol vermelho
- Albumina bovina

GARANTIA DE QUALIDADE

O meio de lavagem de espermatozoides é um meio de cultura filtrado através de membrana e processado em condições de esterilidade de acordo com os processos de fabrico validados para atingir um nível de garantia de esterilidade (SAL) de 10^{-3} .

Cada lote de meio de lavagem de espermatozoides é testado para:

- Endotoxinas, pelos métodos LAL
- Biocompatibilidade pelo Método do Embrião de Ratinho
- Esterilidade pelo teste de esterilidade actual da USP <71>

Todos os resultados estão descritos no Certificado de Análise específico de cada lote, disponível a pedido.

SISTEMA DE TAMPÃO

O meio de lavagem de espermatozóides modificado utiliza uma combinação de 21mM HEPES (N-2-hidroxietilpiperazina-N'-2-ácido etanesulfónico) e 4mM de bicarbonato de sódio como sistema tampão. Este sistema proporciona a manutenção óptima do pH dentro dos parâmetros fisiológicos (7,2-7,4) e não necessita ser utilizado numa incubadora de CO₂.

SUPLEMENTO PROTEICO

O meio de lavagem de espermatozóides modificado contém 5mg/ml de albumina bovina.

INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

A seguir descreve-se um procedimento geral para a lavagem do esperma, a partir do fluido seminal.

1. Deixe o meio equilibrar à temperatura ambiente ou a 37° C.

[Nota : O Meio para lavagem de Esperma deve estar bem rolhado quando for utilizado numa incubadora de CO₂ para evitar níveis de pH de 7,0 ou inferiores.]

2. Deixe que o esperma liquidifique à temperatura ambiente, durante 20 a 30 minutos.
3. Utilizando técnicas assépticas, transfira o esperma líquido para um tubo esterilizado cónico de centrifuga com capacidade para 10 ml e adicione 2 a 3 volumes de meio de lavagem de esperma ou meio modificado de lavagem de esperma (por ex. uma amostra de 2 ml de esperma requer 4 a 6 ml de meio). Se o volume da mistura do meio de esperma for superior a 5 ml, divida-a para 2 tubos esterilizados. Ao monimizar o volume por tubo, para 4-6 ml, a recuperação do esperma vai ser maximizada. As amostra com viscosidade elevada por necessitar de mais

processamento para assegurar a recuperação total do esperma.

4. Centrifugue o tubo à temperatura ambiente durante 10 minutos entre 200 a 300 x *g*.
5. Com uma pipeta esterilizada, retire e rejeite por aspiração o sobrenadante, acima do pellet de esperma. O esperma deve ser novamente ressuspenso com toques suaves do dedo indicador no exterior do tubo. [Nota: Não utilize um agitador vortex para este procedimento]. Ressuspenda o esperma em 1 a 2 ml de meio fresco, coloque a tampa no tubo, e misture suavemente por inversão. Amostras que foram fraccionadas por o terceiro processo anterior devem combinar-se a um tubo só.
6. Recentrifugue o tubo como na etapa 4.
7. Utilizando uma pipeta esterilizada, remova e rejeite o sobrenadante e ressuspenda o esperma por agitação manual suave.. Adicione meio fresco até o volume final de 0,5 ml O esperma está pronto para os procedimentos de reprodução assistida. [Nota: O volume total do útero não- grávido é de 0,25 – 0,50 ml].

CONSIDERAÇÕES ESPECIAIS DE PROCESSAMENTO

Para processar uma amostra de viscosidade elevada:

Algumas amostras têm uma viscosidade elevada naturalmente, mesmo após liquefacção. Estas amostras têm uma consistência de xarope pesado e podem ser de difícil processamento.

1. Depois de adicionar meio ao ejaculado, aspire e expulse a mistura suavemente com uma seringa e agulha de tamanho 18. Este procedimento vai "destruir" algum do muco viscoso.

2. Limite a 5 ml o volume da mistura meio-esperma, conseguida de cada tubo de centrifuga, na primeira centrifugação
3. Se depois do processamento da amostra, com agulha e seringa (etapa 1), o esperma não formar um pellet normal (o esperma parece uma fibra tipo "nuvem" ligada ao fundo do tubo), aspire cuidadosamente com seringa e agulha, o máximo possível de sobrenadante, sem atingir a integridade da fibra tipo "nuvem". Tal pode ser executado se colocar a ponta da agulha, firmemente contra a parede do tubo e lentamente realizar a aspiração do topo para o fundo do mesmo. Quando tiver retirado a maior quantidade possível de sobrenadante, adicione 2-3 ml de meio fresco. Repita o procedimento de rejeição da mistura com agulha de 18 gauge e seringa. Recentrifugue a mistura. O esperma deve formar um pellet normal, após o segundo processamento.
4. Em recolhas seguintes de amostras, deve pedir ao doente que produza uma ejaculação por jactos, que minimiza a viscosidade na porção da amostra rica em esperma.

Para obtenção de detalhes adicionais sobre a utilização destes produtos, cada laboratório deve consultar os seus métodos e protocolos que foram especificamente desenvolvidos e otimizados para o programa médico individualizado.

INSTRUÇÕES DE CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE

Guarde os frascos ou recipientes por abrir no frigorífico entre 2° C a 8° C.

Não congele ou exponha a temperaturas superiores a 39°C.

O meio de lavagem de espermatozóides modificado é estável até à data de expiração indicada no rótulo do recipiente, sempre que seja conservado de acordo com as instruções recomendadas.

PRECAUÇÕES E ADVERTÊNCIAS

Não utilize nenhum recipiente de meio que apresente evidências de matéria em partículas, turvação ou que não apresente uma coloração salmão pálido. As propriedades ópticas da albumina bovina tornam a cor do meio muito mais pálida que outros produtos.

Para evitar problemas de contaminação, manipule o produto em condições de esterilidade e descarte o meio que ficou em excesso no recipiente após o procedimento estar completo.

O Meio de lavagem do esperma modificado não contém antibióticos. A suplementação com antibióticos pode ser feita antes da utilização do meio. Devem tomar-se as precauções necessárias para assegurar que o doente não é sensível ao antibiótico escolhido.

Têm sido notificadas reacções de hipersensibilidade a BSA em doentes previamente sensibilizados por IUI. ("Fertil Steril 56:1188,1991).

A fonte de material bovino deste produto é derivada de animais originários dos EUA.

European Representative
MPIE
Schutweg 13a
5145 NP Waalwijk, The Netherlands



0050



See instructions
for use.



IrvineScientific[®]

2511 Daimler Street, Santa Ana, California 92705-5588

Telephone: 1 949 261 7800 • 1 800 437 5706

Fax: 1 949 261 6522 • www.irvinesci.com

PN 40140 Rev. 8