

Multipurpose Handling Medium (MHM) with Gentamicin

Catalog No. 90163

100 mL, 500 mL

For assisted reproductive procedures.

Für assistierte Reproduktionsverfahren.

Per tecniche di riproduzione assistita.

Para utilización en técnicas de reproducción asistida.

Pour les techniques de procréation médicalement assistée.

Para técnicas de reprodução assistida.

Για διαδικασίες υποβοηθούμενης αναπαραγωγής.

Pro postupy asistované reprodukce.

Til assisteret reproduktionsbehandling.

Avusteisiin lisäintymismenetelmiin.

Ar palģidzēkļiem veicamām reproduktīvām procedūrām.

Voor geassisteerde voortplantingsprocedures.

Do procedur wspomagane go rozrodu.

Pentru proceduri de reproducere asistată.

För procedurer för assisterad befruktning.

Kasutamiseks abistatud viljastamisprotseduurides.

Asszisztált reprodukciós eljárásokhoz.

Skirta pagalbinio apvaisinimo procedūroms.

Yardımcı üreme işlemleri içindir.

Na postupy asistovanej reprodukcie.














За процедури за асистирана репродукция.

За поступке потпомогнуте оплодње.

Għal proceduri ta' riproduzzjoni assistita.

За поступке асистирани репродукције.

Glossary of Symbols*:

	Catalog Number
	Lot Number
	Sterilized using aseptic processing techniques (filtration)
	Expiration: Year - Month - Day
	Caution, consult accompanying documents
	Consult instructions for use
	Storage Temperature 2-8°C
	Do not resterilize
	Do not use if package is damaged
	Manufacturer
	U.S. Caution: Federal law restricts this device to sale by or on the order of a licensed healthcare practitioner.
	CE Mark
	Emergo Europe - Prinsessegracht 20 2514 AP The Hague The Netherlands

*Symbol Reference - EN ISO 15223-1, Medical devices – Symbols to be used with medical device labels, labeling.

EU CAUTION: For Professional Use Only

INDICATION FOR USE

MHM with Gentamicin Sulfate is intended for use in assisted reproductive procedures which involve the manipulation of gametes or embryos. Specifically, MHM is indicated for use as an oocyte retrieval medium during ovarian follicle aspiration procedures (not for flushing ovarian follicles), washing sperm prior to IVF and ICSI fertilization procedures, and for transport of the embryo to the uterus during embryo transfer procedures.

DEVICE DESCRIPTION

MHM is dual buffered solution (HEPES and MOPS) that provides a safe and secure environment to maintain viability of gametes and embryos during manipulations under ambient conditions. It is a versatile solution for swim up preparation, sperm washing, oocyte retrieval and rinsing, IUI, ICSI, and embryo transfer. Product needs proteins supplement. MHM contains 10 µg/mL of the antibiotic Gentamicin Sulfate.

QUALITY ASSURANCE

MHM is a handling 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 MHM is tested for:

Endotoxin by Limulus Amebocyte Lysate (LAL) methodology (≤ 0.25 EU/mL)
Biocompatibility by Mouse Embryo Assay (one-cell at ≥80% expanded blastocyst 96h) .
Sterility by the current USP Sterility Test <71>
Human Sperm Survival Assay (HSSA) (≥70% motility at 24h).

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

COMPOSITION:

<u>Salts and Ions</u>	<u>pH Indicator</u>
Sodium Chloride	Phenol Red
Potassium Chloride	
Magnesium Sulfate	<u>Buffer</u>
Potassium Phosphate	Sodium Bicarbonate
Calcium Chloride	HEPES
	MOPS
<u>Amino Acids</u>	<u>Energy Substrate</u>
Glycine	Sodium Lactate
Taurine	Glucose
	Sodium Pyruvate
<u>Antibiotic</u>	<u>Water</u>
Gentamicin Sulfate	WFI Quality

BUFFER SYSTEM

MHM uses a buffering system composed of a HEPES (N-2-Hydroxyethylpiperazine-N'-2-ethanesulfonic acid), MOPS(3 Morpholinopropane-1-sulfonic acid) and Sodium Bicarbonate combination. This buffering system provides pH maintenance over the physiologic range (7.2 to 7.4) and does not require the use of a CO₂ incubator.

PROTEIN SUPPLEMENTATION

MHM does not contain protein components. The amount of protein supplementation may vary between laboratories and is dependent on the phase of processing/growing of gametes and embryos. Consult your individual laboratory protocols.

The following are recommendation for protein supplementation based upon the indications for use of the MHM:

For Sperm Washing:

When using FUJIFILM Irvine Scientific Inc. Human Serum Albumin (HSA) a 100 mg/mL solution use at 5 mg/mL. For 10 mL of medium, add 0.5 mL of HSA solution to 9.5 mL of the medium. When using FUJIFILM Irvine Scientific, Inc. Serum Substitute Supplement (SSS) a 50mg/mL protein solution use at 10% (v/v). For 10 mL of medium, add 1.0 mL SSS to 9.0 mL of medium.

For Oocyte Retrieval:

When using HSA a 100 mg/mL solution use at 5mg/mL. For 10 mL of medium, add 0.5 mL of HSA solution to 9.5 mL of the medium. When using SSS a 50mg/mL protein solution use at 10% (v/v). For 10 mL of medium, add 1.0 mL SSS to 9.0 mL of medium.

For Embryo Transfer:

When using HSA a 100 mg/mL solution use at 30 mg/mL. For 10 mL of medium, add 3.0 mL of HSA solution to 7.0 mL of the medium. When using SSS a 50mg/mL protein solution use at 50% (v/v). For 10 mL of medium, add 5.0 mL SSS to 5.0 mL of medium.

DIRECTIONS FOR USE

The following are general procedures for the indications of use for the MHM.

Sperm Washing:

The general procedure for washing sperm from its surrounding seminal fluid includes:

- Bring medium to room temperature or 37°C.
- Allow the semen to liquefy at room temperature for 20 to 30 minutes.
- Using aseptic techniques, transfer the liquefied semen into a sterile 10 mL conical centrifuge tube add 2 to 3 volumes of room temperature MHM (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 conical centrifuge tubes, 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 the Special Processing Considerations section).
- Centrifuge the tubes at ambient temperature for 10 minutes using a force of 200 - 300 x g.
- 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.
- Recentrifuge as in Step 4.
- 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 nonravid uterus is 15 - 56 mL).

SPECIAL PROCESSING CONSIDERATIONS

Processing the highly viscous semen sample:

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

- 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.
- Limit the amount of medium-sperm mixture from Step 1 to 5 mL per centrifuge tube for the first centrifugation step.
- 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.

- 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.

Oocyte Retrieval (not for flushing ovarian follicles):

MHM may be supplemented with quality tested pharmaceutical grade heparin (2.5 – 10 units/mL) to reduce clotting of the follicular aspirates containing blood.

- Bring protein supplemented medium to room temperature or 37°C.
- The collected follicle aspirates should be transferred into an empty sterile dish.
- Identify the oocytes and remove them from follicular fluid and possible blood contamination using sterile pipettes using pre-rinsed and supplemented MHM.
- Rinse the oocytes in warmed and supplemented MHM.
- Place oocytes into an equilibrated culture medium for further handling.

Embryo Transfer:

Transfer of embryos from culture medium on day 3 or day 5:

- On day 3 or day 5 following assessment of embryos for development, bring protein supplemented medium to room temperature or 37°C.
- Set up one sterile wash dish containing pre-warmed protein supplemented MHM for each set of embryos.
- Place 1.0 mL of the pre-warmed protein supplemented MHM into the well of a sterile 1-well dish.
- Place the wash dish onto a heated stage.
- Wash the embryos in the wash dish by picking up the embryos 2 - 3 times and moving them around in minimal volume of the pre-warmed protein supplemented MHM within the well.
- After washing the embryos are ready for transfer into the patient.

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

STORAGE INSTRUCTIONS AND STABILITY

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

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

Duration Following Bottle Opening:

Product should be used within (5) weeks from opening when stored under the recommended conditions of 2° to 8°C.

PRECAUTIONS AND WARNINGS

This device is intended to be used by staff trained in assisted reproductive procedures. These procedures include the intended application for which this device is intended. This device is not for use in ovarian follicles flushing procedure. This media is not for use in oocyte flushing procedures.

The user facility of this device is responsible for maintaining traceability of the product and must comply with national regulations regarding traceability, where applicable

Do not use any bottle of medium which shows evidence of particulate matter or cloudiness.

MHM should be tightly capped when used in a CO₂ incubator to avoid pH levels of 7.0 or less.

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

CONTRAINDICATION

Product contains Gentamicin Sulfate. Appropriate precautions should be taken to ensure that the patient is not sensitized to this antibiotic.

 FUJIFILM Irvine Scientific, Inc.

2511 Daimler Street, Santa Ana, California 92705 USA

Telephone: 1 949 261 7800 • 1 800 437 5706 Fax: 1 949 261 6522 • www.irvinesci.com

© 2019 FUJIFILM Irvine Scientific, Inc. All rights reserved. The FUJIFILM Irvine Scientific logo, Multipurpose Handling Medium, MHM, Serum Substitute Supplement, and SSS are trademarks of FUJIFILM Irvine Scientific, Inc. in various jurisdictions. PN 40933 Rev.7

DEUTSCH

EU-VORSICHTSHINWEIS: Nur für den professionellen Einsatz.

INDIKATIONEN

MHM mit Gentamicinsulfat ist für den Einsatz bei assistierten Reproduktionsverfahren vorgesehen, die die Manipulation von Gameten oder Embryonen umfassen. Insbesondere ist MHM zur Verwendung als Oozytenentnahmemedium bei Ovarialfollikelaspirationsverfahren (nicht zum Spülen von Ovarialfollikeln), zum Waschen von Spermia vor IVF- und ICSI-Fertilisationsverfahren und zum Transfer des Embryos in den Uterus bei Embryotransferverfahren indiziert.

PRODUKTBESCHREIBUNG

MHM ist eine doppelt gepufferte Lösung (HEPES und MOPS), die eine sichere Umgebung zur Aufrechterhaltung der Lebensfähigkeit von Gameten und Embryonen bei Manipulationen unter Umgebungsbedingungen bietet. Sie ist eine vielseitig einsetzbare Lösung für Aufschwemmung, Spermawaschen, Oozytenentnahme und -spülung, IUI, ICSI und Embryotransfer. Das Produkt erfordert eine Proteinergänzung. MHM enthält 10 µg/ml des Antibiotikums Gentamicinsulfat.

QUALITÄTSSICHERUNG

MHM ist ein membranfiltriertes Arbeitsmedium, das aseptisch in Übereinstimmung mit Fertigungsverfahren verarbeitet wurde, die nachweislich einen Sterilitäts-sicherheitswert (SAL) von 10^{-3} aufweisen.

Jede MHM-Charge wird auf Folgendes geprüft:

- Endotoxine durch Limulus-Amoebocyten-Lysat-Nachweis (LAL-Methode) ($\leq 0,25$ EU/ml)
- Biokompatibilität durch Mausembryo-Assay (einzellig bei ≥ 80 % expandierter Blastozysten nach 96 h)
- Sterilität durch aktuellen USP-Sterilitätstest <71>
- Humanspermiem-Überlebensassay (HSSA) (≥ 70 % Motilität nach 24 h)

Alle Ergebnisse sind einer chargenspezifischen Analysebescheinigung zu entnehmen, die auf Anfrage erhältlich ist.

ZUSAMMENSETZUNG:

Salze und Ionen	pH-Indikator
Natriumchlorid	Phenolrot
Kaliumchlorid	Puffer
Magnesiumsulfat	Natriumbicarbonat
Kaliumphosphat	HEPES
Calciumchlorid	MOPS
Aminosäuren	Energiesubstrat
Glycin	Natriumlactat
Taurin	Glukose
Antibiotikum	Natriumpyrovat
Gentamicinsulfat	Wasser
	Wasser für Injektionszwecke (WFI)

PUFFERSYSTEM

MHM verwendet ein Puffersystem, das sich aus einer Kombination aus HEPES (N-2-Hydroxyethylpiperazin-N'-2-ethansulfonsäure), MOPS (3-Morpholinopropan-1-sulfonsäure) und Natriumhydrogencarbonat zusammensetzt. Dieses Puffersystem bietet eine Aufrechterhaltung des pH-Werts im physiologischen Bereich (7,2 bis 7,4) und erfordert keinen CO₂-Inkubator.

PROTEINERGÄNZUNG

MHM enthält keine Proteinkomponenten. Der Umfang der Proteinergänzung kann von Labor zu Labor unterschiedlich sein und hängt von der Phase ab, in der sich die Gameten und Embryos während der Verarbeitung/der Anzucht befinden. Es sind die jeweils geltenden Laborprotokolle zu beachten.

Die folgenden Empfehlungen gelten für die Proteinergänzung auf der Grundlage der Indikationen von MHM:

Für die Spermawäsche:

Beim Einsatz von FUJIFILM Irvine Scientific Inc. Human Serum Albumin (HSA), einer 100-mg/ml-Lösung, eine Konzentration von 5 mg/ml verwenden. Um 10 ml Medium herzustellen, wird 0,5 ml HSA-Lösung 9,5 ml des Mediums zugegeben. Beim Einsatz von FUJIFILM Irvine Scientific, Inc. Serum Substitute Supplement (SSS), einer 50-mg/ml-Proteinlösung, eine Konzentration von 10 % (v/v) verwenden. Um 10 ml Medium herzustellen, wird 1,0 ml SSS 9,0 ml des Mediums zugegeben.

Für die Eizellenentnahme:

Beim Einsatz von HSA, einer 100-mg/ml-Lösung, eine Konzentration von 5 mg/ml verwenden. Um 10 ml Medium herzustellen, wird 0,5 ml HSA-Lösung 9,5 ml des Mediums zugegeben. Beim Einsatz von SSS, einer 50-mg/ml-Proteinlösung, eine Konzentration von 10 % (v/v) verwenden. Um 10 ml Medium herzustellen, wird 1,0 ml SSS 9,0 ml des Mediums zugegeben.

Für den Embryotransfer:

Beim Einsatz von HSA, einer 100-mg/ml-Lösung, eine Konzentration von 30 mg/ml verwenden. Um 10 ml Medium herzustellen, werden 3,0 ml HSA-Lösung zu 7,0 ml des Mediums zugegeben. Beim Einsatz von SSS, einer 50-mg/ml-Proteinlösung, eine Konzentration von 50 % (v/v) verwenden. Um 10 ml Medium herzustellen, werden 5,0 ml SSS 5,0 ml des Mediums zugegeben.

GEBRAUCHSANWEISUNG

Im Folgenden sind allgemeine Verfahren für die Indikationen von MHM aufgeführt.

Spermawäsche:

Im Allgemeinen wird zum Auswaschen von Spermia aus der umgebenden Samenflüssigkeit wie folgt vorgefahren:

- Das Medium auf Raumtemperatur oder 37 °C bringen.
- Den Samen 20 bis 30 Minuten lang bei Raumtemperatur verflüssigen lassen.
- Den verflüssigten Samen mit aseptischen Techniken in ein steriles, konisches 10-ml-Zentrifugenröhrchen überführen und das 2- bis 3-fache Volumen an MHM (Raumtemperatur) zugeben (Beispiel: für eine 2-ml-Samenprobe werden 4 bis 6 ml Medium benötigt). Sollte die Mischung aus Spermia und Medium ein Volumen von mehr als 5 ml ergeben, ist sie auf zwei sterile konische Zentrifugenröhrchen zu verteilen, sodass das Volumen pro Röhrchen auf 4–6 ml reduziert wird, um die Spermagewinnung zu maximieren. Proben mit hoher Viskosität erfordern möglicherweise eine weitere Aufbereitung, um eine vollständige Spermagewinnung sicherzustellen. (siehe Abschnitt der Spezialhinweise zur Aufbereitung).
- Die Röhrchen bei Umgebungstemperatur 10 Minuten lang mit einer Gravitationskraft von 200–300 x g zentrifugieren.
- Den Überstand über dem „Sperma-Pellet“ mit einer sterilen Pipette durch Aspiration entfernen und verwerfen. Das Spermia dann behutsam resuspendieren; dazu mit dem Zeigefinger gegen das Röhrchen schnippen. (Hinweis: Für diesen Schritt keinen Vortexmischer verwenden.) Das Spermia in 1 bis 2 ml frischem Medium resuspendieren, die Kappe wieder aufsetzen und behutsam durch Umdrehen mischen. Proben, die für den ersten Zentrifugierschritt fraktioniert wurden, jetzt wieder in einem Röhrchen kombinieren.
- Wie in Schritt 4 erneut zentrifugieren.
- Den Überstand mit einer sterilen Pipette entfernen und verwerfen; das Spermia-Pellet durch manuelles Schütteln behutsam resuspendieren. Frisches Medium bis zu einem Endvolumen von 0,5 ml zugeben. Das Spermia ist jetzt für assistierte Reproduktionsverfahren einsatzbereit. (Hinweis: Das Gesamtvolumen der unschwangeren Gebärmutter beträgt zwischen 15 und 56 ml).

SPEZIALHINWEISE ZUR AUFBEREITUNG

Aufbereitung einer hochviskosen Samenprobe:

Manche Proben weisen selbst nach der Verflüssigung noch eine hohe natürliche Viskosität auf. Diese Proben haben die Konsistenz eines zähflüssigen Sirups und ihre Aufbereitung kann sich als äußerst schwierig erweisen.

- Nach Zugabe des Mediums zu einem Ejakulat die Mischung mit einer 18-G-Nadel und Spritze aspirieren und behutsam ausstoßen. Dabei wird ein Teil des viskosen Schleims „abgeschoren“.
- Das Volumen der Medium-Sperma-Mischung in Schritt 1 der ersten Zentrifugation auf 5 ml pro Zentrifugenröhrchen beschränken.
- Bildet sich nach der Vorbereitung der Probe mit Nadel und Spritze (Schritt 1) kein normales Sperma-Pellet (das Spermia hängt stattdessen als „getrübe Faser“ am Boden des Zentrifugenröhrchens), mit einer sterilen Nadel und Spritze möglichst viel Überstand aspirieren, ohne dabei die „getrübe Spermafaser“ zu beeinträchtigen. Dazu die angeschrägte Kante der Nadel fest an die Wand des Zentrifugenröhrchens halten und dabei langsam von der Oberseite des Röhrchens nach unten aspirieren. Nach Entfernung von möglichst viel Überstand 2 oder 3 ml frisches Medium zugeben. Den Vorgang wiederholen und die Mischung durch die 18-G-Nadel und Spritze ziehen. Die Mischung erneut zentrifugieren. Das Spermia sollte nach der zweiten Aufbereitung ein normales Pellet bilden.
- Bei nachfolgenden Probenahmen den Patienten bitten, ein geteiltes Ejakulat zu produzieren, was die Viskosität im spermareichen Teil der Probe minimieren wird.

Oozytenentnahme (nicht zum Spülen von Ovarialfollikeln):

MHM kann mit qualitätsgeprüftem Heparin in pharmazeutischer Qualität (2,5–10 Einheiten/ml) ergänzt werden, um die Gerinnung der Follikelaspirate, die Blut enthalten, zu reduzieren.

- Die Proteinergänzung auf Raumtemperatur oder 37 °C bringen.
- Die gesammelten Follikelaspirate in eine leere sterile Schale übertragen.
- Die Oozyten identifizieren und aus der Follikelflüssigkeit entfernen. Mögliche Blutkontamination mit einer sterilen zuvor mit ergänztem MHM gespülten Pipette entfernen.
- Die Oozyten in vorgewärmtem und ergänztem MHM spülen.
- Die Oozyten zur Weiterverarbeitung in ein äquilibriertes Kulturmedium geben.

Embryotransfer:

Übertragung von Embryonen aus Kulturmedium an Tag 3 oder Tag 5:

- An Tag 3 oder 5 nach der Beurteilung der Entwicklung der Embryos das Medium mit Proteinergänzung auf Raumtemperatur oder 37 °C bringen.
- Für jeden Satz von Embryonen eine sterile Waschschaale mit vorgewärmtem MHM mit Proteinergänzung bereitstellen.
- 1,0 ml des vorgewärmten MHM mit Proteinergänzung in das Well einer sterilen 1-Well-Schale geben.
- Die Waschschaale auf eine Heizplatte stellen.
- Die Embryonen in der Waschschaale waschen, dazu die Embryos 2–3-mal aufnehmen und in einem minimalen Volumen des vorgewärmten MHM mit Proteinergänzung im Well herum bewegen.
- Nach dem Waschen sind die Embryonen für den Transfer in den Patienten bereit.

Weitere Einzelheiten zum Gebrauch von MHM sind den Verfahren und Vorschriften des jeweiligen Labors zu entnehmen, die eigens für das jeweilige medizinische Programm entwickelt und optimiert wurden.

LAGERUNGSANWEISUNGEN UND STABILITÄT

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

Nicht einfrieren oder Temperaturen über 39 °C aussetzen.

Haltbarkeit nach Öffnen der Flasche:

Nach dem Öffnen ist das Produkt innerhalb von fünf (5) Wochen zu verwenden, wenn es unter den empfohlenen Bedingungen von 2 °C bis 8 °C gelagert wird.

VORSICHTSMASSNAHMEN UND WARNHINWEISE

Dieses Produkt ist für den Gebrauch durch Personal vorgesehen, das in assistierten Reproduktionsverfahren geschult ist. Zu diesen Verfahren zählt der Anwendungsbereich, für den dieses Produkt vorgesehen ist. Dieses Produkt ist nicht zum Spülen von Ovarialfollikeln geeignet. Dieses Medium ist nicht zur Verwendung bei Oozytenpülverfahren geeignet.

Die Einrichtung des Anwenders ist für die Rückverfolgbarkeit des Produkts verantwortlich und muss alle einschlägigen geltenden Bestimmungen zur Rückverfolgbarkeit einhalten.

Flaschen mit Medium, das sichtbare Partikel enthält oder getrübt ist, nicht verwenden.

Wird MHM in einem CO₂-Inkubator erwärmt, ist es fest mit einer Kappe zu verschließen, um pH-Werte von 7,0 oder weniger zu vermeiden.

Um Kontaminationsprobleme zu vermeiden, stets mit aseptischen Techniken handhaben und überschüssiges Medium, das nach Abschluss des Verfahrens in der Flasche oder im Fläschchen verbleibt, entsorgen.

KONTRAINDIKATIONEN

Das Produkt enthält Gentamicinsulfat. Es ist anhand angemessener Vorsichtsmaßnahmen sicherzustellen, dass der Patient keine Sensitivität gegenüber diesem Antibiotikum aufweist.

AVVERTENZA PER L'UE: solo per uso professionale.

INDICAZIONI PER L'USO

MHM con gentamicina solfato è un terreno indicato per l'uso nelle tecniche di riproduzione assistita che prevedono la manipolazione di gameti e di embrioni. In modo specifico, MHM è previsto per l'uso come terreno per gli ovociti durante le procedure di aspirazione dei follicoli ovarici (non è previsto per il lavaggio degli ovociti dai follicoli stessi), per il lavaggio dello sperma prima delle procedure di fecondazione FIV convenzionale e FIV con ICSI (iniezione intracitoplasmatica di spermatozoi) e per il trasporto dell'embrione all'utero durante le procedure di trasferimento degli embrioni.

DESCRIZIONE DEL DISPOSITIVO

MHM, una soluzione contenente due tamponi (HEPES e MOPS), costituisce un ambiente sicuro e protetto in grado di mantenere la vitalità dei gameti e degli embrioni durante le manipolazioni in condizioni ambientali normali. È una soluzione versatile per la preparazione dello sperma mediante metodo swim-up, il lavaggio dello sperma, il prelievo e il lavaggio degli ovociti, l'inseminazione intrauterina, l'iniezione intracitoplasmatica di spermatozoi, e il trasferimento degli embrioni. Necessita di integrazione proteica. Contiene 10 µg/ml di antibiotico gentamicina solfato.

GARANZIA DI QUALITÀ

MHM è un terreno di trattamento filtrato su membrana e preparato in condizioni di sterilità mediante processi di produzione convalidati in grado di fornire un livello di garanzia della sterilità (SAL) di 10⁻³.

Ciascun lotto di MHM è stato sottoposto a test specifici diretti a valutare:

- la presenza di endotossine, mediante saggio del lisato di amebociti di Limulus (LAL) ($\leq 0,25$ EU/ml);
- la biocompatibilità, mediante saggio su embrioni di topo (embrioni unicellulari con $\geq 80\%$ di blastocisti espanse a 96 ore);
- la sterilità mediante l'attuale test di sterilità USP <71>;
- la sopravvivenza degli spermatozoi umani, mediante test di sopravvivenza spermatica ($\geq 70\%$ della motilità originale a 24 ore).

Tutti i risultati sono riportati in un Certificato di analisi specifico per ogni lotto, disponibile su richiesta.

COMPOSIZIONE

<u>Sali e ioni</u>	<u>Indicatore di pH</u>
Cloruro di sodio	Rosso fenolo
Cloruro di potassio	
Solfato di magnesio	<u>Tampone</u>
Fosfato di potassio	Bicarbonato di sodio
Cloruro di calcio	HEPES
	MOPS
<u>Aminoacidi</u>	<u>Substrati energetici</u>
Glicina	Lattato di sodio
Taurina	Glucosio
<u>Antibiotico</u>	Piruvato di sodio
Gentamicina solfato	<u>Acqua</u>
	Qualità WFI
	(Acqua per iniezioni)

SISTEMA TAMPONE

MHM utilizza un sistema tampone, costituito da una combinazione di HEPES (acido N-2-idrossietil-piperazinil-N'-2-etansolfonico), MOPS (acido 3 morfolinopropano-1-solfonico) e bicarbonato di sodio, che consente il mantenimento del pH sul range fisiologico (7,2-7,4) e non richiede l'uso di un incubatore a CO₂.

INTEGRAZIONE PROTEICA

MHM non contiene componenti proteici. L'entità dell'integrazione proteica può variare a seconda del laboratorio e dipende dalla fase di trattamento/sviluppo dei gameti ed embrioni. Consultare i protocolli di laboratorio specifici.

Le seguenti sono raccomandazioni in merito all'integrazione proteica basate sulle indicazioni per l'uso del terreno MHM.

Per il lavaggio dello sperma:

L'albumina sierica umana (HSA) di FUJIFILM Irvine Scientific, Inc. (fornita in soluzione da 100 mg/ml) deve essere usata a una concentrazione di 5 mg/ml. Per ottenere 10 ml di terreno completo, aggiungere 0,5 ml di soluzione HSA a 9,5 ml di terreno di base. Serum Substitute supplemento (SSS) di FUJIFILM Irvine Scientific, Inc. (una soluzione proteica da 50 mg/ml) deve essere usato a una concentrazione del 10% (v/v). Per ottenere 10 ml di terreno completo, aggiungere 1,0 ml di soluzione SSS a 9,0 ml di terreno di base.

Per il recupero degli ovociti:

Quando HSA è fornita in soluzione da 100 mg/ml deve essere usata a una concentrazione di 5 mg/ml. Per ottenere 10 ml di terreno completo, aggiungere 0,5 ml di soluzione HSA a 9,5 ml di terreno di base. SSS (una soluzione proteica da 50 mg/ml) deve essere usata a una concentrazione del 10% (v/v). Per ottenere 10 ml di terreno completo, aggiungere 1,0 ml di soluzione SSS a 9,0 ml di terreno di base.

Per il trasferimento degli embrioni:

Quando HSA è fornita in soluzione da 100 mg/ml deve essere usata a una concentrazione di 30 mg/ml. Per ottenere 10 ml di terreno completo, aggiungere 3,0 ml soluzione HSA a 7,0 ml di terreno di base. SSS (una soluzione proteica da 50 mg/ml) deve essere usata a una concentrazione del 50% (v/v). Per ottenere 10 ml di terreno completo, aggiungere 5,0 ml di soluzione SSS a 5,0 ml di terreno di base.

ISTRUZIONI PER L'USO

Le seguenti sono procedure generali basate sulle indicazioni per l'uso del terreno MHM.

Lavaggio dello sperma

La procedura generale per il lavaggio dello sperma dal fluido seminale circostante è la seguente.

1. Portare il terreno a temperatura ambiente oppure a 37 °C.
2. Lasciar liquefare il liquido seminale a temperatura ambiente per 20-30 minuti.
3. Trasferire con tecnica asettica il liquido seminale liquefatto in una provetta conica sterile per centrifuga da 10 ml e aggiungere 2-3 volumi di MHM a temperatura ambiente (per esempio, un campione di 2 ml di liquido seminale richiederà 4-6 ml di terreno). Per ottenere il massimo recupero dello sperma, se il volume della miscela di terreno e liquido seminale supera i 5 ml, suddividerla in due provette coniche sterili per centrifuga, riducendo il volume di ciascuna provetta a 4-6 ml. I campioni con notevole viscosità potranno richiedere un ulteriore trattamento per garantire il recupero completo dello sperma (vedere la sezione Osservazioni su trattamenti speciali).
4. Centrifugare le provette a temperatura ambiente per 10 minuti a 200-300 x g.
5. Eliminare e smaltire, aspirandolo con una pipetta sterile, il supernatante presente sopra il pellet di sperma. Risospendere lo sperma picchiettando con l'indice sulla parete esterna della provetta. (Nota: non usare un miscelatore Vortex per questa operazione.) Risospendere lo sperma in 1-2 ml di terreno fresco, tappare di nuovo e miscelare delicatamente capovolgendo la provetta. I campioni frazionati per la prima centrifugazione devono ora essere ricombinati in un'unica provetta.
6. Ricentrifugare come al punto 4.
7. Eliminare e smaltire il supernatante utilizzando una pipetta sterile, poi risospendere il pellet di sperma agitando manualmente e delicatamente la provetta. Aggiungere terreno fresco a un volume finale di 0,5 ml. Lo sperma è pronto per le tecniche di riproduzione assistita. (Nota: il volume totale dell'utero non gravido è di 15-56 ml.)

OSSERVAZIONI SU TRATTAMENTI SPECIALI

Trattamento di campioni di sperma con notevole viscosità

Alcuni campioni sono molto viscosi anche dopo la liquefazione. Questi campioni hanno la consistenza di uno sciroppo denso e possono essere tra i più difficili da trattare.

1. Dopo che il terreno è stato aggiunto allo sperma, aspirare ed espellere la miscela delicatamente usando una siringa con un ago calibro 18. Questo riduce in una certa misura il muco viscoso.
2. Per la prima centrifugazione, limitare la miscela di terreno e sperma indicata al punto 1 a 5 ml per ciascuna provetta.
3. Se dopo il pretrattamento del campione con siringa e ago (punto 1) lo sperma non forma il pellet in modo normale (lo sperma apparirà come una "fibra torbida" sul fondo della provetta), aspirare con cura usando una siringa con ago sterile quanto più supernatante possibile senza disgregare la fibra torbida di sperma. Questa operazione può essere eseguita mantenendo la punta smussata dell'ago saldamente contro la parete della provetta e cominciando ad aspirare lentamente dall'alto della provetta verso il basso. Dopo aver rimosso quanto più supernatante possibile, aggiungere 2 o 3 ml di terreno fresco. Ripetere l'operazione di aspirazione della miscela con la siringa e l'ago calibro 18. Ricentrifugare la miscela. Lo sperma deve formare il pellet normalmente dopo il secondo trattamento.
4. Durante le raccolte successive di campione, al paziente deve essere chiesto di produrre separatamente le prime frazioni di liquido seminale eiaculato ("split-ejaculate") allo scopo di ridurre al minimo la viscosità della porzione del campione ricco di sperma.

Prelievo degli ovociti (non per il lavaggio dei follicoli ovarici)

MHM può essere integrato con eparina di classe farmaceutica sottoposta a test di qualità (2,5-10 unità/ml) per ridurre la formazione di coaguli negli aspirati follicolari contenenti sangue.

1. Portare il terreno già sottoposto a integrazione proteica a temperatura ambiente o a 37 °C.
2. Gli aspirati follicolari prelevati devono essere trasferiti in una piastra sterile vuota.
3. Identificare gli ovociti ed estrarli dal fluido follicolare per separarli dalla possibile contaminazione ematica usando pipette sterili pre-sciacquate con MHM con integrazione proteica.
4. Risciacquare gli ovociti in MHM pre-riscaldato e sottoposto a integrazione proteica.
5. Porre gli ovociti nel terreno di coltura pre-equilibrato in previsione dell'ulteriore trattamento.

Trasferimento dell'embrione

Trasferire gli embrioni dal terreno di coltura al terzo o al quinto giorno dello sviluppo.

1. Il terzo o il quinto giorno, dopo la valutazione dello sviluppo degli embrioni, portare MHM con integrazione proteica a temperatura ambiente oppure a 37 °C.
2. Per ciascun set di embrioni, preparare una piastra di lavaggio sterile contenente MHM con integrazione proteica pre-riscaldato.
3. Dosare 1,0 ml di MHM con integrazione proteica pre-riscaldato nel pozzetto di una piastra sterile a 1 pozzetto.
4. Collocare la piastra su una superficie riscaldata.
5. Lavare gli embrioni nella piastra di lavaggio prelevandoli 2-3 volte e muovendoli all'interno di un volume minimo di MHM con integrazione proteica pre-riscaldato all'interno del pozzetto.
6. Dopo il lavaggio, gli embrioni sono pronti per il trasferimento nella paziente.

Per ulteriori dettagli sull'uso del terreno MHM, il laboratorio deve consultare le procedure e i protocolli specificamente sviluppati e ottimizzati per il proprio programma medico.

ISTRUZIONI PER LA CONSERVAZIONE

E STABILITÀ

Conservare i flaconi integri in frigorifero a una temperatura compresa tra 2 °C e 8 °C.

Non congelare o esporre a temperature superiori a 39 °C.

Stabilità dopo l'apertura del flacone

Il prodotto deve essere utilizzato entro cinque (5) settimane dall'apertura purché la conservazione avvenga alle condizioni consigliate di 2-8 °C.

PRECAUZIONI E AVVERTENZE

Questo prodotto deve essere utilizzato da personale qualificato nelle tecniche di riproduzione assistita. Tali procedure comprendono l'applicazione per la quale è previsto l'uso del dispositivo. Questo prodotto non è previsto per l'uso nelle procedure di lavaggio dei follicoli ovarici. Il presente terreno non è previsto per l'uso nel corso delle procedure di prelievo degli ovociti mediante lavaggio dei follicoli ovarici.

La struttura che utilizza questo dispositivo ha la responsabilità di mantenere la tracciabilità del prodotto ed è tenuta a rispettare la normativa nazionale in materia di tracciabilità, ove pertinente.

Non usare flaconi di terreno che presentino particolato o torbidità.

Il terreno MHM deve rimanere ben tappato se utilizzato in un incubatore a CO₂ per evitare livelli di pH di 7,0 o inferiori.

Per evitare problemi di contaminazione, maneggiare usando tecniche in asepsi ed eliminare ogni eccesso di terreno rimasto nel flacone o nella fiala al termine della procedura.

CONTROINDICAZIONI

Il prodotto contiene gentamicina solfato. Adottare le opportune precauzioni per assicurarsi che la paziente non presenti sensibilità a questo antibiotico.

ESPAÑOL

ADVERTENCIA PARA LA UE: solo para uso profesional.

INDICACIÓN DE USO

El MHM con sulfato de gentamicina se ha diseñado para su uso en procedimientos de reproducción asistida en los que se manipulen gametos o embriones. En concreto, el MHM está indicado para su uso como medio de recuperación de ovocitos durante los procedimientos de aspiración de folículos ováricos (no para el lavado de folículos ováricos), para el lavado de esperma antes de los procedimientos de fecundación FIV e ICSI, y para el traslado del embrión al útero durante los procedimientos de transferencia de embriones.

DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO

El MHM es una solución tampón doble (HEPES y MOPS) que proporciona un entorno seguro para la viabilidad de gametos y embriones durante las manipulaciones en condiciones ambientales. Es una solución versátil para la preparación del sobrenadante, el lavado de esperma, la recuperación y lavado de ovocitos, IUI, ICSI y transferencia de embriones. El producto necesita suplemento de proteínas. El MHM contiene 10 µg/ml del antibiótico sulfato de gentamicina.

GARANTÍA DE CALIDAD

El MHM es un medio de manipulación filtrado a través de membranas y se procesa en condiciones asépticas conforme a procesos de fabricación validados para conseguir un nivel de garantía de esterilidad (SAL) de 10⁻³.

Cada lote de MHM es sometido a análisis de:

Endotoxinas, por métodos LAL (lisado de amebocitos de limulus) (≤ 0,25 UE/ml)
Biocompatibilidad por ensayo de embriones de ratón (estado de una célula con ≥ 80 % de blastocistos expandidos a las 96 horas)
Esterilidad, por el vigente ensayo de esterilidad <71> de la USP
Ensayo de supervivencia de espermatozoides humanos (HSSA) (motilidad ≥ 70 % a las 24 horas)

Todos los resultados están descritos en el certificado de análisis específico de cada lote, el cual puede obtenerse previa petición.

COMPOSICIÓN:

Sales e iones	Indicador del pH
Cloruro sódico	Rojo de fenol
Cloruro potásico	
Sulfato magnésico	<u>Sistemas tampón</u>
Fosfato potásico	Bicarbonato sódico
Cloruro cálcico	HEPES MOPS

<u>Aminoácidos</u>	<u>Sustrato energético</u>
Glicina	Lactato sódico
Taurina	Glucosa
<u>Antibiótico</u>	Piruvato sódico

Sulfato de gentamicina
Agua
Calidad de agua para inyectables

SISTEMA TAMPÓN

El MHM utiliza un sistema tampón compuesto por HEPES (ácido N-2-hidroxiethylpiperazina-N'-2-etanosulfónico), MOPS (ácido 3 morfolinopropano-1-sulfónico) y bicarbonato sódico. Este sistema tampón mantiene el pH en el rango fisiológico (7,2-7,4) y no requiere el uso de una incubadora de CO₂.

SUPLEMENTO PROTEICO

El MHM no contiene componentes proteicos. La cantidad de suplemento proteico puede variar entre laboratorios y depende de la fase del proceso y/o desarrollo de los gametos y embriones. Consultar los protocolos propios de su laboratorio.

A continuación se indican las recomendaciones de suplementos proteicos en función de las indicaciones de uso del MHM.

Para el lavado de esperma:

Si utiliza la solución de albúmina sérica humana (HSA) de FUJIFILM Irvine Scientific Inc. con 100 mg/ml, empléela en una concentración de 5 mg/ml. Para 10 ml de medio, añadir 0,5 ml de solución HSA a 9,5 ml del medio. Si utiliza la solución proteica con 50 mg/ml del Serum Substitute Supplement (SSS) de FUJIFILM Irvine Scientific, Inc., empléela al 10 % (v/v). Para 10 ml del medio, añadir 1,0 ml de SSS a 9 ml del medio.

Para la recuperación de ovocitos:

Si utiliza la solución de HSA con 100 mg/ml, empléela en una concentración de 5 mg/ml. Para 10 ml de medio, añadir 0,5 ml de solución HSA a 9,5 ml del medio. Si utiliza la solución proteica con 50 mg/ml del SSS, empléela al 10 % (v/v). Para 10 ml del medio, añadir 1,0 ml de SSS a 9 ml del medio.

Para la transferencia de embriones:

Si utiliza la solución de HSA con 100 mg/ml, empléela en una concentración de 30 mg/ml. Para 10 ml de medio, añadir 3,0 ml de solución HSA a 7,0 ml del medio. Si utiliza la solución proteica con 50 mg/ml del SSS, empléela al 50 % (v/v). Para 10 ml de medio, añadir 5,0 ml de SSS a 5,0 ml del medio.

INSTRUCCIONES DE USO

A continuación, se describen los procedimientos generales relacionados con las indicaciones de uso del MHM.

Lavado de esperma:

El protocolo general para lavar el esperma del fluido seminal que lo rodea abarca estos pasos:

1. Dejar que el medio alcance la temperatura ambiente o 37 °C.
2. Dejar licuar el semen manteniéndolo a temperatura ambiente de 20 a 30 minutos.
3. Con técnicas asépticas transferir el semen licuado a un tubo cónico de centrifuga de 10 ml y añadir de 2 a 3 volúmenes del MHM a temperatura ambiente (p. ej., para 2 ml de semen, añadir de 4 a 6 ml de medio). Si el volumen de la mezcla del medio espermático fuera superior a 5 ml, repartirlo en dos tubos cónicos de centrifuga estériles, con lo que se minimiza el volumen por tubo a 4-6 ml y se maximiza la recuperación del esperma. Las muestras con alta viscosidad pueden necesitar un procesamiento adicional para garantizar la recuperación total del esperma (ver la sección «Consideraciones especiales del proceso»).
4. Centrifugar los tubos a temperatura ambiente durante 10 minutos aplicando una fuerza «g» de 200-300.
5. Con una pipeta estéril aspirar y desechar el sobrenadante situado encima del «sedimento espermático». Luego, resuspender el esperma golpeando suavemente el tubo por fuera con el dedo índice. (Nota: no usar un agitador vórtex en este paso del proceso.) Resuspender el esperma en 1 a 2 ml de medio fresco, tapar de nuevo y mezclar con suavidad por inversión. Las muestras que se fraccionaron en el primer paso de centrifugación deben combinarse ahora en un solo tubo.
6. Volver a centrifugar como en el paso 4.
7. Con una pipeta estéril aspirar y desechar el sobrenadante y resuspender el sedimento espermático agitando a mano con suavidad. Añadir medio fresco hasta un volumen final de 0,5 ml. El esperma está listo para los procedimientos de reproducción asistida. (Nota: El volumen total del útero no grávido es de 15-56 ml.)

CONSIDERACIONES ESPECIALES DEL PROCESO

Procesamiento de muestras de semen muy viscosas:

Algunas muestras presentan un aspecto muy viscoso incluso después de la licuación. Estas muestras tienen la consistencia de un jarabe concentrado y pueden ser las más difíciles de procesar.

1. Después de añadir el medio al eyaculado, aspirar y expulsar la mezcla suavemente con una jeringa y una aguja del calibre 18. Con ello se desharán en parte las mucosidades más viscosas.

2. Limitar la cantidad de la mezcla de medio y semen descrita en el paso 1 a 5 ml por tubo de centrifuga para el primer paso de centrifugación.
3. Si, después de procesar la muestra con la aguja y la jeringa (paso 1), el esperma no se sedimenta de manera normal, sino que aparece como una «fibra turbia» pegada al fondo del tubo de centrifuga, aspirar cuidadosamente con una jeringa y una aguja estériles todo el sobrenadante que sea posible sin alterar la fibra turbia del esperma. Para ello, mantener el lado biselado de la aguja fijo contra la pared del tubo y empezar a aspirar lentamente desde la parte superior del tubo hacia abajo. Cuando se haya desechado la mayor cantidad posible de sobrenadante, añadir 2 o 3 ml del medio fresco. Repetir el proceso de aspirado de la mezcla a través de jeringa con una aguja de calibre 18. Volver a centrifugar la mezcla. El esperma debería sedimentar correctamente después del segundo procesamiento.
4. En sucesivas recolecciones de muestras, se deberá pedir al paciente que fraccione el eyaculado para así minimizar la viscosidad en la fracción más abundante en esperma de la muestra.

Recuperación de ovocitos (no para el lavado de folículos ováricos):

El MHM se puede suplementar con heparina de calidad farmacéutica verificada (2,5-10 unidades/ml) para reducir la coagulación de los aspirados foliculares que contienen sangre.

1. Dejar que el medio suplementado con proteínas alcance la temperatura ambiente o 37 °C.
2. Los aspirados foliculares recolectados se deben transferir a una placa estéril vacía.
3. Identificar los ovocitos y aislarlos del líquido folicular y de la posible contaminación sanguínea con pipetas estériles prelavadas con MHM suplementado.
4. Lavar los ovocitos en MHM calentado y suplementado.
5. Colocar los ovocitos en un medio de cultivo equilibrado para su manipulación posterior.

Transferencia de embriones:

Transferencia de embriones desde el medio de cultivo en el día 3 o 5:

1. El día 3 o el día 5 después de evaluar el desarrollo de los embriones, llevar el medio suplementado con proteínas a temperatura ambiente o a 37 °C.
2. Preparar una placa de lavado estéril que contenga el MHM precalentado y suplementado con proteínas por cada lote de embriones.
3. Introducir 1,0 ml del MHM precalentado y suplementado con proteínas en el pocillo de una placa estéril con 1 solo pocillo.
4. Colocar la placa de lavado en una platina calentada.
5. Lavar los embriones de la placa de lavado tomando de 2 a 3 veces los embriones y removiéndolos dentro del pocillo en un volumen mínimo del MHM precalentado y suplementado con proteínas.
6. Después del lavado, los embriones están listos para su transferencia a la paciente.

Para más detalles sobre la utilización del MHM, consultar los protocolos y los procedimientos de su laboratorio, que se habrán desarrollado y optimizado específicamente de acuerdo con su programa médico particular.

INSTRUCCIONES DE CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Conservar los frascos sin abrir refrigerados a una temperatura entre 2 °C y 8 °C.

No congelar ni exponer a temperaturas superiores a 39 °C.

Validez después de la apertura del frasco:

Tras abrirlo, el producto se debe utilizar en un plazo de ocho (8) semanas si se conserva en las condiciones recomendadas a 2-8 °C.

PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

Este producto está destinado a su uso por parte de personal con formación en procedimientos de reproducción asistida. Entre estos procedimientos se incluye la aplicación para la que se ha diseñado el producto. Este producto no está indicado en el procedimiento de lavado de los folículos ováricos. Este medio no está indicado para los procedimientos de lavado de ovocitos.

El centro donde se utilice este producto tiene la responsabilidad de mantener la trazabilidad del producto y debe cumplir la normativa nacional sobre trazabilidad, según corresponda.

No usar ningún frasco del medio que muestre partículas o turbidez.

El MHM debe cerrarse herméticamente si se introduce en una incubadora de CO₂ para evitar valores de pH de 7,0 o inferiores.

Para evitar problemas de contaminación, manipular con una técnica aséptica y desechar el medio sobrante que quede en el frasco o en el vial una vez finalizado el procedimiento.

CONTRAINDICACIÓN

El producto contiene sulfato de gentamicina. Se deben adoptar las medidas pertinentes para asegurarse de que la paciente no se encuentre sensibilizada a este antibiótico.

FRANÇAIS

MISE EN GARDE (UE) : réservé à un usage professionnel.

INDICATION D'UTILISATION

MHM avec sulfate de gentamicine est destiné à être utilisé pour la manipulation des gamètes et embryons humains lors des techniques de procréation médicalement assistée. Plus précisément, MHM est indiqué comme milieu de récupération des ovocytes lors des techniques d'aspiration des follicules ovariens (et non d'évacuation des follicules ovariens), de lavage des spermatozoïdes avant les procédures d'insémination par FIV ou IICS, et pour le transport des embryons dans l'utérus pendant les transferts d'embryons.

DESCRIPTION DU DISPOSITIF

MHM est une solution à double tampon (HEPES et MOPS) constituant un milieu sûr permettant de maintenir la viabilité des gamètes et des embryons pendant les manipulations à température ambiante. C'est une solution polyvalente pour la préparation à la migration ascendante, le lavage des spermatozoïdes, la récupération et le rinçage des ovocytes, l'IUI, l'IICS et le transfert des embryons. Le produit requiert un supplément protéique. MHM contient 10 µg/ml de sulfate de gentamicine (antibiotique).

ASSURANCE QUALITÉ

MHM est un milieu de manipulation filtré par membrane et traité de façon aseptique selon des procédés de fabrication qui ont été validés pour répondre à un niveau d'assurance de stérilité (SAL - Sterility Assurance Level) de 10⁻³.

Chaque lot de MHM a subi les tests suivants :

Contenu en endotoxines par la méthode LAL (≤ 0,25 EU/ml)

Test de biocompatibilité par le test sur embryon de souris (une seule cellule ≥ 80 % du taux de blastocystes développés à 96 heures)

Stérilité par les tests de stérilité courants de la pharmacopée américaine (USP) <71>

Test de survie des spermatozoïdes humains (HSSA) (≥ 70 % de la motilité à 24 heures)

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

COMPOSITION :

Sels et ions	Indicateur de pH
Chlorure de sodium	Rouge de phénol
Chlorure de potassium	Tampon
Sulfate de magnésium	Bicarbonate de sodium
Phosphate de potassium	HEPES
Chlorure de calcium	MOPS
Acides aminés	Substrat énergétique
Glycine	Lactate de sodium
Taurine	Glucose
Antibiotique	Pyruvate de sodium
Sulfate de gentamicine	Eau
	Qualité WFI

SYSTÈME TAMPON

MHM utilise un système tampon composé d'HEPES (acide N-2 hydroxyéthyl pipérazine-N'-2-éthane sulfonique), de MOPS (acide 3-morpholinopropane-1-sulfonique) et de bicarbonate de sodium. Ce système tampon permet le maintien d'un pH physiologique (7,2 à 7,4) et ne nécessite pas l'utilisation d'une étuve à CO₂.

SUPLÉMENTATION PROTÉIQUE

MHM ne contient pas de composants protéiques. La quantité de protéines à ajouter peut varier selon les laboratoires et dépend du stade du traitement et/ou du développement des gamètes et des embryons. Chaque laboratoire doit consulter ses propres protocoles.

Voici les recommandations pour l'ajout de protéines, basées sur les indications d'utilisation du MHM :

Pour le lavage du sperme :

Lorsque la solution d'albumine sérique humaine (HSA) FUJIFILM Irvine Scientific Inc., une solution de 100 mg/ml, est utilisée, utiliser à une concentration de 5 mg/ml. Pour 10 ml de milieu, ajouter 0,5 ml de solution HSA à 9,5 ml de milieu. Lorsque la solution de Serum Substitute Supplement (SSS) FUJIFILM Irvine Scientific, Inc., une solution protéique de 50 mg/ml, est utilisée, utiliser à une concentration de 10 % (v/v). Pour 10 ml de milieu, ajouter 1,0 ml de solution SSS à 9,0 ml de milieu.

Pour le prélèvement d'ovocytes :

Lorsque la solution HSA de 100 mg/ml est utilisée, utiliser à 5 mg/ml. Pour 10 ml de milieu, ajouter 0,5 ml de solution HSA à 9,5 ml de milieu. Lorsque la solution protéique SSS de 50 mg/ml est utilisée, utiliser à 10 % (v/v). Pour 10 ml de milieu, ajouter 1,0 ml de solution SSS à 9,0 ml de milieu.

Pour le transfert d'embryons :

Lorsqu'une solution HSA de 100 mg/ml est utilisée, utiliser à 30 mg/ml. Pour 10 ml de milieu, ajouter 3,0 ml de solution HSA à 7,0 ml de milieu. Lorsque la solution protéique SSS de 50 mg/ml est utilisée, utiliser à 50 % (v/v). Pour 10 ml de milieu, ajouter 5,0 ml de solution SSS à 5,0 ml de milieu.

MODE D'EMPLOI

Voici les procédures générales pour les indications d'utilisation de MHM.

Lavage du sperme :

Méthode générale de lavage des spermatozoïdes du liquide séminal le baignant :

1. Préchauffer le milieu à température ambiante ou à 37 °C
2. Permettre au sperme de se liquéfier à température ambiante pendant 20 à 30 minutes.
3. En utilisant des techniques aseptiques, transférer le sperme liquéfié dans un tube à centrifuger conique stérile de 10 ml, ajouter 2 à 3 volumes de MHM 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 à centrifuger coniques stériles, en minimisant le volume à 4 à 6 ml par tube, 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. Conditions de traitement particulières).
4. Centrifuger les tubes à température ambiante pendant 10 minutes en utilisant une force g comprise entre 200 et 300 x g.
5. En utilisant une pipette stérile, aspirer le surnageant au-dessus du « culot de centrifugation » et le jeter. Le sperme doit être remis en suspension en tapant doucement avec l'index sur le tube. (Remarque : ne pas utiliser de vortex à cette étape). Remettre le sperme en suspension dans 1 à 2 ml de milieu frais, bouchonner et mélanger en retournant doucement les tubes. Les échantillons ayant été fractionnés lors de la première étape de centrifugation doivent être regroupés dans un seul tube.
6. Centrifuger comme dans l'étape 4.
7. En utilisant une pipette stérile, aspirer le surnageant, l'éliminer et remettre le culot de centrifugation en suspension en l'agitant doucement à la main. Ajouter du milieu frais jusqu'à atteindre un volume final de 0,5 ml. Les spermatozoïdes sont maintenant prêts pour les procédés de procréation assistée. (Remarque : le volume total de l'utérus non gravide est de 15 à 56 ml).

CONDITIONS DE TRAITEMENT PARTICULIÈRES

Traitement de prélèvements de sperme à viscosité élevée :

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

1. Après ajout du milieu à un éjaculat, aspirer et expulser délicatement le mélange à l'aide d'une seringue et d'une aiguille de 18 G. Cela permettra de « cisailer » 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 effectué le pré-traitement du prélèvement avec une seringue et une aiguille (étape 1), le sperme ne forme pas un « culot de centrifugation » normal (qui apparaît comme des fibres troubles attachées au fond du tube), aspirer soigneusement le plus de surnageant possible sans troubler les « fibres » en utilisant une seringue et une aiguille. Pour ce faire, maintenir le biseau de l'aiguille fermement contre la paroi du tube à centrifuger en aspirant lentement le surnageant du haut vers le bas du tube. Après avoir éliminé le plus possible de surnageant, ajouter 2 ou 3 ml de milieu frais. Aspirer et expulser à nouveau le mélange sperme-milieu à l'aide d'une seringue et d'une aiguille de 18 G. Centrifuger à nouveau le mélange. Le sperme devrait former un culot de centrifugation normal après ce deuxième traitement.
4. Pour des prélèvements ultérieurs, demander au patient de recueillir l'éjaculat en plusieurs fractions pour réduire la viscosité de la fraction riche en spermatozoïdes.

Récupération des ovocytes (non destinée à l'évacuation des follicules ovariens) :

MHM peut être supplémenté en héparine de qualité pharmaceutique validée (2,5 à 10 unités/ml) pour minimiser la coagulation des aspirats folliculaires contenant du sang.

1. Préchauffer le milieu à température ambiante ou à 37 °C.
2. Les aspirats folliculaires recueillis doivent être transférés dans une boîte de Pétri stérile vide.
3. Identifier les ovocytes et les prélever du liquide folliculaire et de la contamination sanguine éventuelle à l'aide de pipettes stériles rincées au préalable avec du MHM supplémenté.
4. Rincer les ovocytes dans du MHM préchauffé et supplémenté.
5. Placer les ovocytes dans un milieu de culture équilibré pour une manipulation ultérieure.

Transfert des embryons :

Transférer les embryons du milieu de culture le troisième ou le cinquième jour :

1. Le troisième ou le cinquième jour suivant l'évaluation du développement des embryons, porter le milieu supplémenté en protéines à température ambiante ou à 37 °C.
2. Préparer une boîte de lavage stérile contenant du MHM supplémenté en protéines préchauffé pour chaque lot d'embryons.
3. Placer 1,0 ml de MHM supplémenté en protéines préchauffé dans le puits d'une boîte à puits unique stérile.
4. Placer la boîte de lavage sur une platine chauffée.
5. Laver les embryons dans la boîte de lavage en les prélevant 2 ou 3 fois et en les déplaçant dans un volume minimal de MHM supplémenté en protéines préchauffé à l'intérieur du puits.
6. Une fois les embryons lavés, ils sont prêts à être transférés dans le patient.

Pour plus de détails sur l'utilisation de MHM, chaque laboratoire doit consulter ses propres procédures et protocoles standard qui ont été spécialement élaborés et optimisés pour chaque établissement médical particulier.

CONSIGNES DE CONSERVATION ET STABILITÉ

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

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

Durée de conservation après l'ouverture du flacon :

Le produit doit être utilisé dans les cinq (5) semaines après l'ouverture du flacon lorsqu'il est conservé dans les conditions recommandées entre 2 et 8 °C.

PRÉCAUTIONS ET MISES EN GARDE

Ce dispositif est destiné à une utilisation par un personnel formé aux techniques de procréation médicalement assistée. Ces procédures incluent l'application indiquée pour laquelle ce dispositif est prévu. Ce dispositif n'est pas destiné à être utilisé pour l'évacuation des follicules ovariens. Ce milieu ne convient pas à l'évacuation des ovocytes.

L'établissement de l'utilisateur de ce dispositif est tenu de veiller à la traçabilité du produit et doit se conformer aux réglementations nationales en matière de traçabilité, le cas échéant.

N'utiliser aucun flacon de milieu s'il contient des particules ou s'il est trouble.

Les flacons de MHM doivent être bien fermés lorsqu'ils sont utilisés dans une étuve à CO₂ pour éviter la baisse de pH à 7,0 ou moins.

Pour éviter les problèmes de contamination, manipuler en appliquant des techniques aseptiques et jeter l'excès de milieu restant dans le fond du flacon ou de la fiole une fois la procédure terminée.

CONTRE-INDICATIONS

Le produit contient du sulfate de gentamicine. Des précautions particulières doivent être prises pour s'assurer que le patient ne présente aucune sensibilité à cet antibiotique.

PORTUGUÊS

ADVERTÊNCIA (UE): Exclusivamente para uso profissional.

INDICAÇÃO DE UTILIZAÇÃO

O MHM com sulfato de gentamicina destina-se a ser utilizado em técnicas de reprodução assistida que envolvam a manipulação de gâmetas ou embriões. Especificamente, o MHM está indicado para utilização como um meio de recuperação de oócitos durante técnicas de aspiração de folículos ovários (não para irrigação de folículos ovários), lavagem de esperma antes de técnicas de fertilização FIV e ICSI e para o transporte do embrião para o útero durante procedimentos de transferência embrionária.

DESCRIÇÃO DO DISPOSITIVO

O MHM é uma solução com dois sistemas tampão (HEPES e MOPS) que fornece um meio seguro e protegido para manter a viabilidade dos gâmetas e embriões durante manipulações em condições ambientais. É uma solução versátil para preparação de esperma “swim up” (esperma colocado sob o meio), lavagem de esperma, recuperação e enxaguamento de oócitos, IUI, ICSI e transferência embrionária. O produto necessita de suplemento proteico. O MHM contém 10 µg/ml do antibiótico sulfato de gentamicina.

GARANTIA DE QUALIDADE

O MHM é um meio de manipulação que foi filtrado por membrana e processado asseticamente de acordo com os procedimentos de fabrico validados para se obter um nível de garantia de esterilidade (SAL — Sterility Assurance Level) de 10⁻³.

Cada lote de MHM é submetido aos seguintes testes:

- Endotoxinas pelo ensaio de lisado de amebócitos de Limulus (LAL) (≤ 0,25 UE/ml)
- Biocompatibilidade pelo ensaio em embrião de ratinho (uma célula ≥ 80% blastocistos expandidos às 96 h)
- Esterilidade pelos testes de esterilidade do capítulo 71 da versão atual da USP (Farmacopeia dos EUA)
- Ensaio de sobrevivência de esperma humano (HSSA) (motilidade ≥ 70% às 24 h)

Todos os resultados estão descritos no certificado de análise específico de cada lote, disponível a pedido.

COMPOSIÇÃO:

Sais e iões	Indicador de pH
Cloreto de sódio	Vermelho de fenol
Cloreto de potássio	
Sulfato de magnésio	Tampão
Fosfato de potássio	Bicarbonato de sódio
Cloreto de cálcio	HEPES
	MOPS
Aminoácidos	Substrato energético
Glicina	Lactato de sódio
Taurina	Glucose
Antibiótico	Piruvato de sódio
Sulfato de gentamicina	
	Água
	Qualidade WFI (água p/ preparações injetáveis)

SISTEMA TAMPÃO

O MHM utiliza um sistema de tamponamento constituído por uma combinação de HEPES (N-2-hidroxiethylpiperazina-N'-2-ácido etanossulfónico), MOPS (ácido 3-morfolinopropano-1-sulfónico) e bicarbonato de sódio. Este sistema de tamponamento permite a manutenção do pH no intervalo fisiológico (7,2 a 7,4) e não requer a utilização de uma incubadora de CO₂.

SUPLEMENTO PROTEICO

O MHM não contém componentes proteicos. A quantidade de suplemento proteico pode variar entre laboratórios e está dependente da fase de processamento/crescimento dos gâmetas e embriões. Consulte os seus protocolos laboratoriais.

Apresentam-se a seguir as recomendações relativas ao suplemento proteico com base nas indicações de utilização do MHM:

Para lavagem de esperma:

Quando utilizar a Human Serum Albumin (HSA) da FUJIFILM Irvine Scientific Inc., uma solução a 100 mg/ml, utilize-a na concentração de 5 mg/ml. Para 10 ml de meio, adicione 0,5 ml de solução HSA a 9,5 ml do meio. Quando utilizar o Serum Substitute Supplement (SSS) da FUJIFILM Irvine Scientific, Inc., uma solução proteica de 50 mg/ml, utilize-a na concentração de 10% (v/v). Para 10 ml de meio, adicione 1,0 ml de SSS a 9,0 ml de meio.

Para colheita de oócitos:

Quando utilizar a HSA, uma solução de 100 mg/ml, utilize-a na concentração de 5 mg/ml. Para 10 ml de meio, adicione 0,5 ml de solução HSA a 9,5 ml do meio. Quando utilizar a SSS, uma solução proteica de 50 mg/ml, utilize-a na concentração de 10% (v/v). Para 10 ml de meio, adicione 1,0 ml de SSS a 9,0 ml de meio.

Para transferência embrionária:

Quando utilizar a HSA, uma solução de 100 mg/ml, utilize-a na concentração de 30 mg/ml. Para 10 ml de meio, adicione 3,0 ml de solução HSA a 7,0 ml do meio. Quando utilizar a SSS, uma solução proteica de 50 mg/ml, utilize-a na concentração de 50% (v/v). Para 10 ml de meio, adicione 5,0 ml de SSS a 5,0 ml de meio.

INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

Em seguida, são apresentadas as técnicas gerais para as indicações de utilização do MHM.

Lavagem de esperma:

O procedimento geral de lavagem do esperma do fluido seminal envolvente inclui:

- Deixe o meio atingir a temperatura ambiente ou 37 °C.
- Deixe o esperma liquefazer à temperatura ambiente durante 20 a 30 minutos.
- Utilizando técnicas asséticas, transfira o sêmen liquefeito para um tubo de centrifugadora cónico de 10 ml estéril e adicione 2 a 3 volumes de MHM à temperatura ambiente (por exemplo, uma amostra de 2 ml de sêmen requer 4 ml a 6 ml de meio). Se o volume da mistura de meio e esperma for superior a 5 ml, divida em dois tubos de centrifugadora estéreis; ao minimizar o volume por tubo para 4 ml–6 ml, maximizará a recuperação do esperma. As amostras com viscosidade elevada podem necessitar de processamento adicional para garantir a recuperação total do esperma. (Consulte a secção Considerações especiais sobre o processamento).
- Centrifugue os tubos à temperatura ambiente durante 10 minutos, selecionando uma força “g” de 200 a 300 x g.
- Utilizando uma pipeta estéril, retire e rejeite, por aspiração, o sobrenadante existente por cima do “*pellet* de esperma”. O esperma deve ser ressuspenso batendo suavemente com o dedo indicador no exterior do tubo. (Nota: não utilize um misturador de vórtice para este passo.) Ressuspenda o esperma em 1 ml a 2 ml de meio recém-preparado, volte a tapar o tubo e misture suavemente por inversão as amostras que foram fracionadas para a o primeiro passo de centrifugação e que devem agora ser recombinadas num tubo.
- Volte a centrifugar o tubo como no passo 4.
- Utilizando uma pipeta estéril, retire e rejeite o sobrenadante e ressuspenda o *pellet* de esperma com cuidado, através de agitação manual. Adicione meio fresco até atingir um volume final de 0,5 ml. O esperma está preparado para as técnicas de reprodução assistida. (Nota: o volume total do útero não-grávido é de 15 ml a 56 ml.)

CONSIDERAÇÕES ESPECIAIS SOBRE O PROCESSAMENTO

Processamento de amostra de sêmen de viscosidade elevada:

Algumas amostras têm uma viscosidade naturalmente elevada, mesmo após liquefação. Estas amostras têm uma consistência de xarope denso e podem ser das mais difíceis de processar.

- Depois de adicionar o meio a um ejaculado, aspire e expulse a mistura suavemente utilizando uma seringa e uma agulha de calibre 18. Este procedimento vai “desbastar” parte do muco viscoso.
- Durante o primeiro passo de centrifugação, limite o volume da mistura de meio e esperma, obtida no passo 1, a 5 ml por tubo de centrifugadora.
- Se, após o pré-processamento da amostra com a agulha e a seringa (passo 1), o esperma não formar um *pellet* da forma habitual (o esperma aparecerá como “fibras turvas” presas ao fundo do tubo de centrifugadora), aspire cuidadosamente o máximo possível de sobrenadante, utilizando uma agulha e seringa estéreis, sem afetar a integridade das “fibras de esperma turvas”. Para o fazer, pode manter a ponta biselada da agulha firmemente encostada à parede do tubo de centrifugadora e iniciar, lentamente, a aspiração desde o topo para baixo. Quando tiver retirado o máximo possível de sobrenadante, adicione 2 ml ou 3 ml de meio fresco. Repita o processo de extração da mistura através da seringa e agulha de calibre 18. Recentrifugue a mistura. Após o segundo processamento, o esperma deve formar um *pellet* da forma habitual.
- Em colheitas subsequentes de amostras, deve pedir-se ao doente para colher o ejaculado em várias porções (*split ejaculation*), o que minimiza a viscosidade na porção da amostra rica em esperma.

Recuperação de oócitos (não se destina à irrigação de folículos ovários):

O MHM pode ser suplementado com heparina de categoria farmacêutica com qualidade testada (2,5 unidades/ml–10 unidades/ml) para reduzir a coagulação de aspirados foliculares que contenham sangue.

- Deixe o meio com suplemento proteico atingir a temperatura ambiente ou 37 °C.
- Os aspirados de folículos colhidos devem ser transferidos para uma placa estéril vazia.
- Identifique os oócitos e retire-os do líquido folicular e possível contaminação de sangue, utilizando pipetas estéreis pré-enxaguadas com MHM suplementado.
- Lave os oócitos em MHM aquecido e suplementado.
- Coloque os oócitos num meio de cultura equilibrado para posterior manipulação.

Transferência embrionária:

Transfira os embriões do meio de cultura no 3.º dia ou no 5.º dia:

- No 3.º dia ou no 5.º dia após a avaliação do desenvolvimento dos embriões, deixe o meio com suplemento proteico atingir a temperatura ambiente ou 37 °C.
- Prepare uma placa de lavagem estéril contendo MHM com suplemento proteico pré-aquecido para cada conjunto de embriões.
- Coloque 1,0 ml de MHM com suplemento proteico pré-aquecido no poço de uma placa de 1 poço estéril.
- Coloque a placa de lavagem sobre uma plataforma aquecida.
- Lave os embriões na placa de lavagem, pegando nos embriões 2 a 3 vezes e movendo-os num volume mínimo de MHM com suplemento proteico pré-aquecido dentro do poço.
- Após a lavagem, os embriões estão prontos para serem transferidos para a doente.

Para obter mais informações sobre a utilização do MHM, cada laboratório deve consultar os respetivos procedimentos e protocolos que tenham sido concebidos e otimizados especificamente para o seu programa médico.

INSTRUÇÕES DE CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE

ConsERVE OS FRASCOS NÃO ABERTOS E REFRIGERADOS ENTRE 2 °C e 8 °C.

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

Duração após a abertura do frasco:

O produto deve ser utilizado no prazo de oito (5) semanas após a abertura, desde que conservado nas condições recomendadas entre 2 °C e 8 °C.

PRECAUÇÕES E ADVERTÊNCIAS

Este dispositivo foi concebido para ser utilizado por pessoal com formação em técnicas de reprodução assistida. Estes procedimentos incluem a aplicação prevista para a qual este dispositivo foi concebido. Este dispositivo não se destina a ser utilizado no procedimento de irrigação de folículos ovários. Este meio não se destina a ser utilizado em procedimentos de irrigação de oócitos.

A instituição do utilizador deste dispositivo é responsável pela manutenção da rastreabilidade do produto e tem de cumprir a regulamentação nacional sobre rastreabilidade, sempre que aplicável.

Não utilize um frasco de meio com evidências de conter partículas ou turvação.

O MHM deve estar bem tapado quando for utilizado numa incubadora de CO₂ para evitar níveis de pH iguais ou inferiores a 7,0.

Para evitar problemas de contaminação, manipule o produto utilizando técnicas asséticas e elimine qualquer excedente de meio que tenha ficado no frasco ou no tubo depois de o procedimento estar concluído.

CONTRAINDICAÇÕES

O produto contém sulfato de gentamicina. Devem ser tomadas as precauções adequadas para assegurar que a doente não é sensível a este antibiótico.

ΕΛΛΗΝΙΚΑ

ΣΥΣΤΑΣΗ ΠΡΟΣΟΧΗΣ ΓΙΑ ΤΗΝ Ε.Ε.:

Για επαγγελματική χρήση μόνο.

ΕΝΔΕΙΞΗ ΧΡΗΣΗΣ

Το ΜΗΜ με θεϊκή γενταμικίνη προορίζεται για χρήση σε διαδικασίες υποβοηθούμενης αναπαραγωγής που περιλαμβάνουν χειρισμό γαμετών ή εμβρύων. Συγκεκριμένα, το ΜΗΜ ενδείκνυται για χρήση ως μέσο ωοληψίας κατά τις διαδικασίες αναρρόφησης ωοθυλακίων (όχι για έκπλυση ωοθυλακίων), την έκπλυση σπέρματος πριν από διαδικασίες γονιμοποίησης IVF και ICSI, καθώς και για τη μεταφορά του εμβρύου στη μήτρα κατά τις διαδικασίες μεταφοράς εμβρύου.

ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΗΣ ΣΥΣΚΕΥΗΣ

Το ΜΗΜ είναι ένα διπλό ρυθμιστικό διάλυμα (HEPES και MOPS) που παρέχει ασφαλές και ασφαλισμένο περιβάλλον για τη διατήρηση της βιωσιμότητας γαμετών και εμβρύων κατά τους χειρισμούς υπό συνθήκες περιβάλλοντος. Είναι ένα διάλυμα πολλαπλών χρήσεων για την προετοιμασία της ανόδουσης σπέρματος, της έκπλυσης σπέρματος, της ωοληψίας και της έκπλυσης ωοκυττάρων, της IUI, της ICSI και της μεταφοράς εμβρύου. Το προϊόν χρειάζεται συμπλήρωμα πρωτεΐνης. Το ΜΗΜ περιέχει 10 μg/mL του αντιβιοτικού θεϊκή γενταμικίνη.

ΔΙΑΣΦΑΛΙΣΗ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ

Το ΜΗΜ είναι ένα μέσο χειρισμού το οποίο υποβάλλεται σε διήθηση με μεμβράνη και σε επεξεργασία με άσηπτη τεχνική σύμφωνα με διαδικασίες παρασκευής που έχουν επικυρωθεί ότι πληρούν επίπεδο διασφάλισης στεριότητας (SAL) 10⁻³.

Κάθε παρτίδα ΜΗΜ ελέγχεται για τα εξής:

Ενδοτοξίνη με τη μεθοδολογία προϊόντων λύσης αμοιβαδοειδών κυττάρων Limulus (LAL) (≤ 0,25 EU/mL) Βιοσυμβατότητα μέσω προσδιορισμού εμβρύου ποτικών (ενός κυττάρου σε διάγκωση της βλαστοκύστης στις 96 ώρες ≥ 80%) Στεριότητα μέσω της τρέχουσας δοκιμασίας στεριότητας κατά USP <71> Δοκιμασία επιβίωσης ανθρώπινου σπέρματος (HSSA) (≥ 70% κινητικότητα στις 24 ώρες)

Όλα τα αποτελέσματα αναφέρονται σε Πιστοποιητικό Ανάλυσης ειδικό ανά παρτίδα, το οποίο διατίθεται κατόπιν αιτήματος.

ΣΥΝΘΕΣΗ:

Άλατα και ιόντα	Δείκτης pH
Χλωριούχο νάτριο	Ερυθρό της φαινόλης
Χλωριούχο κάλιο	
Θεϊκό μαγνήσιο	Ρυθμιστικό διάλυμα
Φωσφορικό κάλιο	Διττανθρακικό νάτριο
Χλωριούχο ασβέστιο	HEPES
	MOPS
Αμινοξέα	Ενεργειακό υπόστρωμα
Γλυκίνη	Γαλακτικό νάτριο
Ταυρίνη	Γλυκόζη
Αντιβιοτικό	Πυροσταφυλικό νάτριο
Θεϊκή γενταμικίνη	
	Νερό
	Ποιότητα ενέσιμου ύδατος (WFI)

ΡΥΘΜΙΣΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ

Το ΜΗΜ χρησιμοποιεί ρυθμιστικό σύστημα που αποτελείται από έναν συνδυασμό HEPES (N-(2-υδροξυαιθυλο)-πιπεραζινο-N'-2-αιθανοσουλφονικό οξύ), MOPS (3 μορφολινο-προπανο-1-σουλφονικό οξύ) και διττανθρακικού νατρίου. Αυτό το ρυθμιστικό σύστημα παρέχει διατήρηση του pH σε όλο το φυσιολογικό εύρος (7,2 έως 7,4) και δεν απαιτεί τη χρήση επωαστήρα CO₂.

ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ

Το ΜΗΜ δεν περιέχει πρωτεϊνικά συστατικά. Η ποσότητα του συμπληρώματος πρωτεϊνών μπορεί να διαφέρει μεταξύ των εργαστηρίων και εξαρτάται από τη φάση επεξεργασίας/ανάπτυξης των γαμετών και των εμβρύων. Συμβουλευτείτε τα πρωτόκολλα του εργαστηρίου σας.

Τα παρακάτω αποτελούν συστάσεις για την εφαρμογή συμπληρώματος πρωτεΐνης, οι οποίες βασίζονται στις ενδείξεις χρήσης του ΜΗΜ:

Για έκπλυση σπέρματος:

Κατά τη χρήση της ανθρώπινης αλβουμίνης ορού (HSA) της FUJIFILM Irvine Scientific Inc., ενός διαλύματος 100 mg/mL, χρησιμοποιήστε στα 5 mg/mL. Για 10 mL μέσου, προσθέστε 0,5 mL διαλύματος HSA σε 9,5 mL του μέσου. Κατά τη χρήση συμπληρώματος υποκατάστατου ορού (SSS) της FUJIFILM Irvine Scientific, Inc., ενός διαλύματος πρωτεϊνών 50 mg/mL, χρησιμοποιήστε στο 10% (v/v). Για 10 mL μέσου, προσθέστε 1,0 mL SSS σε 9,0 mL μέσου.

Για ωοληψία:

Κατά τη χρήση HSA, ενός διαλύματος 100 mg/mL, χρησιμοποιήστε στα 5 mg/mL. Για 10 mL μέσου, προσθέστε 0,5 mL διαλύματος HSA σε 9,5 mL του μέσου. Κατά τη χρήση SSS, ενός διαλύματος πρωτεϊνών 50 mg/mL, χρησιμοποιήστε στο 10% (v/v). Για 10 mL μέσου, προσθέστε 1,0 mL SSS σε 9,0 mL μέσου.

Για μεταφορά εμβρύου:

Κατά τη χρήση HSA, ενός διαλύματος 100 mg/mL, χρησιμοποιήστε στα 30 mg/mL. Για 10 mL μέσου, προσθέστε 3,0 mL διαλύματος HSA σε 7,0 mL του μέσου. Κατά τη χρήση SSS, ενός διαλύματος πρωτεϊνών 50 mg/mL χρησιμοποιήστε στο 50% (v/v). Για 10 mL μέσου, προσθέστε 5,0 mL SSS σε 5,0 mL μέσου.

ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ

Τα παρακάτω αποτελούν γενικές διαδικασίες για τις ενδείξεις χρήσης του ΜΗΜ.

Έκπλυση σπέρματος:

Η γενική διαδικασία έκπλυσης του σπέρματος από το περιβάλλον σπερματικό υγρό περιλαμβάνει τα εξής:

- Φέρτε το μέσο σε θερμοκρασία δωματίου ή στους 37 °C.
- Αφίστε το σπέρμα να υγροποιηθεί σε θερμοκρασία δωματίου για 20 έως 30 λεπτά.
- Χρησιμοποιώντας άσηπτες τεχνικές, μεταφέρετε το ρευστοποιημένο σπέρμα σε αποστειρωμένο κωνικό σωληνάριο φυγοκέντρου 10 mL και προσθέστε 2 έως 3 όγκους ΜΗΜ σε θερμοκρασία δωματίου (για παράδειγμα, δείγμα σπέρματος 2 mL χρειάζεται 4 έως 6 mL μέσου). Εάν ο όγκος του μίγματος μέσου σπέρματος είναι μεγαλύτερος από 5 mL, χωρίστε σε δύο αποστειρωμένα κωνικά σωληνάρια φυγοκέντρου, ελαχιστοποιώντας τον όγκο ανά σωληνάριο στα 4-6 mL, η ανάκτηση του σπέρματος μεγιστοποιείται. Δείγματα με υψηλό ιζώδες μπορεί να χρειάζονται περαιτέρω επεξεργασία για να διασφαλιστεί η πλήρης ανάκτηση σπέρματος. (Βλ. ενότητα Θέματα ειδικής επεξεργασίας).
- Τοποθετήστε τα σωληνάρια σε φυγόκεντρο σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για 10 λεπτά, χρησιμοποιώντας δύναμη g 200-300 x g.
- Χρησιμοποιώντας μια αποστειρωμένη πιπέτα, αφαιρέστε και απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό πάνω από το «σφαιρίδιο σπέρματος» με αναρρόφηση. Το σπέρμα θα πρέπει στη συνέχεια να εναιωρηθεί ξανά με απαλό χτύπημα του σωληναρίου εξωτερικά με τον δείκτη του χεριού. (Σημείωση: μη χρησιμοποιείτε αναμικτή τροβιλισμού τύπου vortex γι' αυτό το βήμα). Εναιωρήστε ξανά το σπέρμα σε 1 έως 2 mL φρέσκου μέσου, τοποθετήστε ξανά το πώμα και αναμίξτε με ήπιες κινήσεις, αναποδογυρίζοντας το σωληνάριο. Δείγματα που χωρίστηκαν για το πρώτο βήμα φυγοκέντρισης, θα πρέπει τώρα να συνδυαστούν ξανά σε ένα σωληνάριο.
- Υποβάλετε ξανά σε φυγοκέντριση, όπως στο βήμα 4.
- Χρησιμοποιώντας αποστειρωμένη πιπέτα, αφαιρέστε και απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό και εναιωρήστε ξανά το σφαιρίδιο σπέρματος, ήπια, με χειρωνακτική ανάδευση. Προσθέστε φρέσκο μέσο σε τελικό όγκο 0,5 mL. Το σπέρμα είναι έτοιμο για τις διαδικασίες υποβοηθούμενης αναπαραγωγής. (Σημείωση: ο συνολικός όγκος μη κυοφορούσας μήτρας είναι 15-56 mL).

ΘΕΜΑΤΑ ΕΙΔΙΚΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ

Επεξεργασία δείγματος σπέρματος με υψηλό ιζώδες:

Μερικά δείγματα έχουν φυσικό υψηλό ιζώδες, ακόμη και μετά την υγροποίηση. Αυτά τα δείγματα έχουν την πυκνότητα ηχητού οριστού και μπορεί να είναι από τα δυσκολότερα στην επεξεργασία.

- Αφού το μέσο προστεθεί σε εκθερμιάσιμα, αναρροφήστε και αδειάστε το μείγμα, με ήπιες κινήσεις, χρησιμοποιώντας βελόνα διαμέτρου 18 gauge και σύριγγα. Με αυτόν τον τρόπο θα «αποκοπεί» μέρος της ιζώδους βλένας.
- Περιορίστε την ποσότητα του μείγματος μέσου-σπέρματος από το βήμα 1 στα 5 mL ανά σωληνάριο φυγοκέντρου για το πρώτο βήμα φυγοκέντρισης.
- Αν μετά την προεπεξεργασία του δείγματος με τη βελόνα και τη σύριγγα (βήμα 1), το σπέρμα δεν «κοκκοποιηθεί» φυσιολογικά (το σπέρμα θα εμφανίζεται ως «νεφελώδης ίνα» προσορμημένο στη βάση του σωληναρίου φυγοκέντρου), αναρροφήστε προσεκτικά όσο περισσότερο υπερκείμενο υγρό μπορείτε, χωρίς να διαταράξετε τη «νεφελώδη ίνα σπέρματος», χρησιμοποιώντας αποστειρωμένη βελόνα και σύριγγα. Αυτό μπορεί να γίνει διατηρώντας το λοζοτηνμένο άκρο της βελόνας σταθερά επάνω στο τοίχωμα του σωληναρίου φυγοκέντρου και ξεκινώντας σιγά την αναρρόφηση από την κορυφή του σωληναρίου προς τα κάτω. Όταν έχει αφαιρεθεί όσο γίνεται περισσότερο από το υπερκείμενο υγρό, προσθέστε 2 ή 3 mL φρέσκου μέσου. Επαναλάβετε τη διαδικασία λήψης του μείγματος με τη βελόνα διαμέτρου 18 gauge και σύριγγα. Υποβάλετε ξανά το μείγμα σε φυγοκέντριση. Το σπέρμα θα πρέπει να κοκκοποιείται κανονικά μετά τη δεύτερη επεξεργασία.
- Σε επόμενες συλλογές δειγμάτων, ο ασθενής θα πρέπει να παράγει ξεχωριστό εκθερμιάσιμα που θα ελαχιστοποιήσει το ιζώδες στο μέρος του δείγματος που είναι πλούσιο σε σπέρμα.

Ωοληψία (όχι για έκπλυση ωοθυλακίων):

Το ΜΗΜ μπορεί να συμπληρωθεί με ποιοτικά ελεγμένη ηπαρίνη φαρμακευτικού βαθμού (2,5-10 μονάδων/mL) για τη μείωση της πήξης των αναρροφημάτων ωοθυλακίων που περιέχουν αίμα.

- Φέρτε το συμπληρωμένο με πρωτεΐνες μέσο σε θερμοκρασία δωματίου ή στους 37 °C.
- Τα συλλεγμένα αναρροφήματα ωοθυλακίων θα πρέπει να μεταφερθούν σε άδειο αποστειρωμένο τρυβλίο.
- Αναγνώριστε τα ωοκύτταρα και αφαιρέστε τα από το θυλακιώδες υγρό και από τυχόν πιθανή επιμόλυνση με αίμα, χρησιμοποιώντας αποστειρωμένες πιπέτες ήδη εκπλυμένες με συμπληρωμένο ΜΗΜ.
- Εκπλύνετε τα ωοκύτταρα σε θερμοασμένο και συμπληρωμένο ΜΗΜ.
- Τοποθετήστε τα ωοκύτταρα σε εξισορροπημένο μέσο καλλιέργειας για περαιτέρω χειρισμό.

Μεταφορά εμβρύου:

Μεταφορά εμβρύων από το μέσο καλλιέργειας την ημέρα 3 ή ημέρα 5:

- Την ημέρα 3 ή την ημέρα 5, μετά από αξιολόγηση των εμβρύων για ανάπτυξη, φέρτε το συμπληρωμένο με πρωτεΐνες μέσο σε θερμοκρασία δωματίου ή 37 °C.
- Ετοιμάστε ένα αποστειρωμένο τρυβλίο έκπλυσης που περιέχει προθερμασμένο συμπληρωμένο με πρωτεΐνες μέσο ΜΗΜ για κάθε σετ εμβρύων.
- Τοποθετήστε 1,0 mL του προθερμασμένου, συμπληρωμένου με πρωτεΐνες μέσου ΜΗΜ στην υποδοχή ενός αποστειρωμένου τρυβλίου 1 θέσης.
- Τοποθετήστε το τρυβλίο έκπλυσης σε θερμανιόμενη βάση.
- Εκπλύνετε τα έμβρυα στο τρυβλίο έκπλυσης σκώνοντας τα έμβρυα 2-3 φορές και μετακινώντας τα σε ελάχιστο όγκο του προθερμασμένου, συμπληρωμένου με πρωτεΐνη ΜΗΜ μέσα στην υποδοχή.
- Μετά την έκπλυση, τα έμβρυα είναι έτοιμα για μεταφορά μέσα στην ασθενή.

Για πρόσθετες λεπτομέρειες σχετικά με τη χρήση του ΜΗΜ, κάθε εργαστήριο θα πρέπει να συμβουλευτείται τις δικές του εργαστηριακές διαδικασίες και πρωτόκολλα, τα οποία έχουν αναπτυχθεί και βελτιστοποιηθεί ειδικά για το δικό του ιατρικό πρόγραμμα.

ΟΔΗΓΙΕΣ ΦΥΛΑΞΗΣ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ

Φυλάξτε τις κλειστές φιάλες στο ψυγείο, σε θερμοκρασία 2 °C έως 8 °C.

Μην καταψύχετε και μην εκθέτετε σε θερμοκρασίες υψηλότερες από 39 °C.

Διάρκεια μετά το άνοιγμα της φιάλης:

Το προϊόν θα πρέπει να χρησιμοποιείται εντός πέντε (5) εβδομάδων από το άνοιγμα όταν φυλάσσεται υπό τις συνιστάμενες συνθήκες, σε θερμοκρασία 2° έως 8 °C.

ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΕΙΣ

Η συσκευή αυτή προορίζεται για χρήση από προσωπικό εκπαιδευμένο στις διαδικασίες υποβοηθούμενης αναπαραγωγής. Οι διαδικασίες αυτές περιλαμβάνουν την υποδεικνυόμενη εφαρμογή για την οποία προορίζεται η συσκευή αυτή. Η συσκευή αυτή δεν προορίζεται για χρήση σε διαδικασία έκπλυσης ωοθυλακίων. Το μέσο αυτό δεν προορίζεται για χρήση σε διαδικασίες έκπλυσης ωοκυττάρων.

Η εγκατάσταση όπου θα χρησιμοποιηθεί αυτή η συσκευή είναι υπεύθυνη για τη διατήρηση της ιχνηλασιμότητας του προϊόντος και πρέπει να συμμορφώνεται με τους εθνικούς κανονισμούς που αφορούν την ιχνηλασιμότητα, όπου εφαρμόζεται

Μη χρησιμοποιείτε καμία φιάλη μέσου που παρουσιάζει ενδείξεις σωματιδιακής ύλης ή θολερότητας.

Το ΜΗΜ θα πρέπει να πωματίζεται σφικτά όταν χρησιμοποιείται σε επωαστήρα CO₂, για την αποφυγή επιπέδων pH 7,0 ή λιγότερο.

Για να αποφύγετε προβλήματα επιμόλυνσης, χειριστείτε εφαρμόζοντας άσηπτες τεχνικές και απορρίψτε τυχόν περίσσεια μέσου που παραμένει στη φιάλη ή το φιαλίδιο μετά την ολοκλήρωση της διαδικασίας.

ΑΝΤΕΝΔΕΙΞΗ

Το ΜΗΜ περιέχει θεϊκή γενταμικίνη. Θα πρέπει να λαμβάνονται οι απαραίτητες προφυλάξεις για να διασφαλιστεί ότι ο ασθενής δεν έχει ευαισθησία στο συγκεκριμένο αντιβιοτικό.

ČEŠTINA

UPOZORNĚNÍ PRO EU: Jen pro profesionální použití.

INDIKACE PRO POUŽITÍ

MHM s gentamicin-sulfátem je určeno k použití při postupech asistované reprodukce, které zahrnují manipulaci s gametami a embryi. MHM je konkrétně indikováno pro použití jako médium pro odběr oocytů při postupech aspirace ovariálních folikulů (nikoliv k proplachování ovariálních folikulů), promývání spermií před postupy oplodnění IVF a ICSI a k přenosu embrya do dělohy při postupech přenosu embryí.

POPIS PROSTŘEDKU

MHM je dvojitě pufovaný roztok (HEPES a MOPS), který zajišťuje bezpečné prostředí k udržení životnosti gamet a embryí při manipulaci v podmínkách okolního prostředí. Jedná se o všestranný roztok pro přípravu vycestování (swim-up), promytí spermií, odběr a propláchnutí oocytů, IUI, ICSI a přenos embryí. Výrobek vyžaduje suplementaci proteinů. MHM obsahuje 10 µg/ml antibiotika gentamicin-sulfátu.

ZAJIŠTĚNÍ KVALITY

MHM je manipulační médium, jež je filtrováno přes membránu a asepticky zpracováno podle výrobních metod, které byly validovány pro úroveň zajištění sterility (SAL) 10⁻³.

Každá šarže MHM je testována na: endotoxin testem Limulus Amebocyte Lysate (LAL) (≤ 0,25 EU/ml), biokompatibilitu testem na myších embryích (jednobuněčné při ≥ 80 % expandované blastocystě 96 h), sterilitu aktuálně používaným testem na kontrolu sterility podle lékopisu USA <71>, přežití lidských spermií testem Human Sperm Survival Assay (HSSA) (≥ 70 % motility po 24 hodinách).

Všechny výsledky jsou uvedeny v analytickém certifikátu k příslušné šarži, který je k dispozici na vyžádání.

SLOŽENÍ:

Soli a ionty	Indikátor pH
Chlorid sodný	Fenolová červená
Chlorid draselný	
Síran hořečnatý	Pufř
Fosforečnan draselný	Hydrogenuhlíčan sodný
Chlorid vápenatý	HEPES
	MOPS
Aminokyseliny	
Glycin	Energetický substrát
Taurin	Mléčnan sodný
	Glukóza
Antibiotikum	Pyruvát sodný
Gentamicin-sulfát	
	Voda
	V kvalitě vody pro injekci

PUFRAČNÍ SYSTÉM

MHM používá puфраční systém sestávající z kombinace HEPES (kyselina N-2-hydroxyethylpiperazin-N'-2-ethansulfonová), MOPS (kyselina 3-morfolinpropan-1-sulfonová) a hydrogenuhlíчанu sodného. Tento puфраční systém zajišťuje udržování pH v rámci fyziologického rozsahu (7,2 až 7,4) a nevyžaduje použití CO₂ inkubátoru.

SUPLEMENTACE PROTEINŮ

MHM neobsahuje proteinové složky. Rozsah suplementace proteinů se může lišit v různých laboratořích a závisí na fázi zpracování/růstu gamet a embryí. Informace naleznete v laboratorních protokolech vaší laboratoře.

Uvádíme doporučení pro suplementaci proteinů na základě indikací pro použití MHM:

Pro promývání spermií:

Pokud používáte lidský sérový albumin (HSA) (roztok 100 mg/ml) společnosti FUJIFILM Irvine Scientific, Inc., použijte 5 mg/ml. Na 10 ml média přidejte 0,5 ml roztoku HSA do 9,5 ml média. Pokud používáte Serum Substitute Supplement (SSS) (roztok proteinů 50 mg/ml) společnosti FUJIFILM Irvine Scientific, Inc., použijte 10 % (v/v). Na 10 ml média přidejte 1,0 ml SSS do 9,0 ml média.

Pro odběr oocytů:

Pokud používáte HSA (roztok 100 mg/ml), použijte při konečné koncentraci 5 mg/ml. Na 10 ml média přidejte 0,5 ml roztoku HSA do 9,5 ml média. Pokud používáte SSS (roztok proteinů 50 mg/ml), použijte 10 % (v/v). Na 10 ml média přidejte 1,0 ml SSS do 9,0 ml média.

Pro přenos embryí:

Pokud používáte HSA (roztok 100 mg/ml), použijte při konečné koncentraci 30 mg/ml. Na 10 ml média přidejte 3,0 ml roztoku HSA do 7,0 ml média. Pokud používáte SSS (roztok proteinů 50 mg/ml), použijte 50 % (v/v). Na 10 ml média přidejte 5,0 ml SSS do 5,0 ml média.

NÁVOD K POUŽITÍ

Níže uvádíme obecné postupy pro indikace pro použití MHM.

Promývání spermií:

Obecný postup pro vymývání spermií z okolní semenné tekutiny:

1. Vytemperujte médium na pokojovou teplotu nebo na 37 °C.
2. Nechte sperma zkapalnit při pokojové teplotě po dobu 20 až 30 minut.
3. Aseptickým postupem přeneste zkapalněné sperma do sterilní 10ml kónické centrifugační zkumavky a přidejte 2× až 3× větší objem MHM o pokojové teplotě (např. na 2ml vzorek spermatu je potřeba 4 až 6 ml média). Pokud bude objem směsi spermií a média větší než 5 ml, rozdělte ji do dvou sterilních kónických centrifugačních zkumavek. Minimalizací objemu na 4–6 ml na jednu zkumavku se maximalizuje sběr spermií. Vzorky s vysokou viskozitou mohou vyžadovat další zpracování, aby se zabezpečil sběr všech spermií. (Viz část Zvláštní okolnosti zpracování).
4. Odstředte zkumavky při okolní teplotě po dobu 10 minut při použití gravitační síly 200–300× g.
5. Pomocí sterilní pipety aspiraci odstraňte a zlikvidujte supernatant nad peletem spermií. Spermie potom resuspendujte šetrným cvrknáním ukazováčkem na vnější stěnu zkumavky. (Poznámka: Pro tento krok nepoužívejte třepačku vortex.) Resuspendujte spermie v 1 až 2 ml čerstvého média, znovu zasetkujte a opatrně promíchejte převracením. Vzorky, které byly rozděleny pro první krok odstředění, nyní znovu smíchejte do jedné zkumavky.
6. Znovu odstředte jako v kroku 4.
7. Pomocí sterilní pipety odstraňte a zlikvidujte supernatant a resuspendujte pelet spermií opatrným ručním třepáním. Přidejte čerstvé médium na konečný objem 0,5 ml. Spermie jsou připravené pro postupy asistované reprodukce. (Poznámka: Celkový objem negravidní dělohy je 15–56 ml).

ZVLÁŠTNÍ OKOLNOSTI ZPRACOVÁNÍ

Zpracování vysoko viskózního vzorku spermatu:

Některé vzorky mají přirozeně vysokou viskozitu i po zkapalnění. Tyto vzorky mají konzistenci hustého sirupu a jejich zpracování může být velmi obtížné.

1. Po přidání média k ejakulátu aspirujte a pozvolna vystříknete směs při použití injekční stříkačky a jehly velikosti 18 G. Tím se „odstříhne“ určité množství viskózního slizu.
2. Pro první krok odstředování omezte množství směsi média a spermií z kroku 1 na 5 ml na centrifugační zkumavku.
3. Pokud po předběžném zpracování vzorku pomocí jehly a injekční stříkačky (krok 1) spermie nevytvářejí pelet normálním způsobem (spermie se jeví jako zakalená vlákna přilepená ke spodní části centrifugační zkumavky), opatrně aspirujte co největší množství supernatantu bez narušení zakalených spermiových vláken pomocí sterilní jehly a injekční stříkačky. Toho lze dosáhnout přitisknutím zkosené strany jehly těsně na stěnu centrifugační zkumavky a pomalým zahájením aspirace z horní části zkumavky směrem dolů. Po odstranění co možná největšího množství supernatantu přidejte 2 až 3 ml čerstvého média.

Zopakujte postup natažení směsi injekční stříkačkou s jehlou velikosti 18 G. Znovu odstředte směs. Po druhém zpracování by spermie měly vytvořit pelet normálně.

4. Při následných odběrech vzorků je třeba požádat pacienta, aby poskytl rozdělený ejakulát, čímž se minimalizuje viskózní částí vzorku bohaté na spermie.

Odběr oocytů (nikoliv k proplachování ovariálních folikulů):

MHM lze suplementovat heparinem ověřené farmaceutické kvality (2,5–10 jednotek/ml) ke snížení srážlivosti folikulárních aspirátů s obsahem krve.

1. Vytemperujte médium suplementované proteinem na pokojovou teplotu nebo na 37 °C.
2. Odebrané folikulární aspiráty je třeba přenést do prázdné sterilní misky.
3. Identifikujte oocyty a odeberte je co nejdříve z folikulární tekutiny k prevenci možné kontaminace krví pomocí sterilních pipet předem propláchnutých suplementovaným MHM.
4. Propláchněte oocyty v ohřátém a suplementovaném MHM.
5. Umístěte oocyty do ekvilibrovaného kultivačního média k další manipulaci.

Přenos embryí:

Přeneste embrya z kultivačního média 3. nebo 5. den:

1. 3. nebo 5. den po vyhodnocení vývoje embryí vytemperujte médium suplementované proteinem na pokojovou teplotu nebo na 37 °C.
2. Pro každou sadu embryí připravte jednu sterilní promývací misku obsahující předehřáté MHM suplementované proteinem.
3. 1,0 ml předehřátého MHM suplementovaného proteinem dejte do jamky sterilní misky s 1 jamkou.
4. Umístěte promývací misku na ohřívanou plochu.
5. Embrya v promývací misce omyjte tak, že každé 2–3× uchopíte a pohybuje jimi v minimálním objemu předehřátého MHM suplementovaného proteinem v jamce.
6. Po omytí jsou embrya připravena na přenos do těla pacientky.

Další informace o použití MHM každá laboratoř získá ve vlastních laboratorních metodách a protokolech vypracovaných a optimalizovaných specificky pro její konkrétní zdravotnický program.

PODMÍNKY UCHOVÁVÁNÍ A STABILITA

Neotevřené lahve uchovávejte v chladničce při teplotě od 2 °C do 8 °C.

Nezmrazujte a nevystavujte teplotám vyšším než 39 °C.

Trvanlivost po otevření lahve:

Výrobek se musí použít do pěti (5) týdnů po otevření, pokud se skladuje při doporučených podmínkách od 2 °C do 8 °C.

BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ A VAROVÁNÍ

Tento prostředek je určen k použití pracovníky školenými v postupech asistované reprodukce. Tyto postupy zahrnují zamýšlenou aplikaci, pro kterou je prostředek určený. Tento prostředek není určen k použití při proplachování ovariálních folikulů. Toto médium není určeno pro postupy proplachování oocytů.

Za sledovatelnost prostředku a dodržování platných státních předpisů týkajících se sledovatelnosti odpovídá podle situace zdravotnické zařízení, v němž je prostředek používán.

Nepoužívejte žádnou lahev s médiem, které obsahuje částecčky nebo je zakalené.

Pokud bude MHM používáno v CO₂ inkubátoru, musí být těsně uzavřené, aby se předešlo pH hodnotě 7,0 nebo nižší.

Aby se zabránilo problémům s kontaminací, dodržujte při manipulaci aseptické postupy a zlikvidujte případný zbytek média v lahvi nebo lahvičce, které po otevření vykazují známky kontaminace.

KONTRAINDIKACE

Výrobek obsahuje gentamicin-sulfát. Vhodným preventivním postupem ověřte, že pacient není senzitivní na toto antibiotikum.

REGEL FOR EU: Kun til professionel brug.

INDIKATIONER FOR ANVENDELSE

MHM med gentamicinsulfat er beregnet til brug ved assisteret reproduktionsprocedurer, der involverer manipulation af gameter eller embryoer. MHM er specifikt indiceret til brug som medium til udtagning af oocytter under aspiration af ægfollikler (ikke til skylning af ægfollikler), oprensning af sæd inden IVF- og ICSI-fertiliseringsprocedurer og til transport af embryoet til uterus under embryotransferering.

BESKRIVELSE AF PRODUKTET

MHM er en dobbeltbufferet opløsning (HEPES og MOPS), der sørger for et sikkert og trygt miljø til at opretholde levedygtighed for gameter og embryoer ved manipulationer under omgivelsesbetingelser. Det er en alsidig løsning for svømmeforberedelse, oprensning af sæd, udtagning og skylning af oocytter, IUI, ICSI og embryotransferering. Produktet skal tilsættes proteiner. MHM indeholder 10 µg/ml af antibiotikummet gentamicinsulfat.

KVALITETSSIKRING

MHM er et håndteringsmedium, der er membranfiltreret og aseptisk behandlet iht. fremstillingsprocedurer, som er blevet valideret og opfylder et steriliseringsniveau (SAL) på 10⁻³.

Hvert MHM-parti er testet for:

Endotoxin med Limulus Amebocyte Lysate- (LAL) metoden (≤ 0,25 EU/ml)

Biokompatibilitet ved analyse af museembryo (éncellet ved ≥ 80 % ekspanderet blastocyst 96 t)

Sterilitet med den aktuelle United States Pharmacopeia-test (USP) <71>

Human Sperm Survival Assay (HSSA) (≥ 70 % motilitet efter 24 t)

Alle resultater rapporteres på et partispecifikt analysecertifikat (Certificate of Analysis), som kan fås efter anmodning.

SAMMENSÆTNING:

<u>Salte og ioner</u>	<u>pH-indikator</u>
Natriumklorid	Rød fenol
Kaliumklorid	
Magnesiumsulfat	<u>Buffer</u>
Kaliumfosfat	Natriumbikarbonat
Kalciumklorid	HEPES
	MOPS
<u>Aminosyrer</u>	<u>Energisubstrat</u>
Glycin	Natriumlaktat
Taurin	Glukose
<u>Antibiotikum</u>	Natriumpyruvat
Gentamicinsulfat	
	<u>Vand</u>
	Af kvalitet til injektionsvæske

BUFFERSYSTEM

MHM bruger et buffersystem bestående af en kombination af HEPES (N-2-hydroxyethylpiperazin-N'-2-ethansulfonsyre), MOPS(3 morfolinopropan-1-sulfonsyre) og natriumbikarbonat. Dette buffersystem giver vedligeholdelse af pH-værdien for det fysiologiske område (7,2-7,4) og kræver ikke brug af en CO₂-inkubator.

PROTEINTILFØRSEL

MHM indeholder ikke proteinkomponenter. Mængden af proteintilførsel kan variere fra laboratorium til laboratorium og afhænger af behandlings-/vækstfasen for gameter og embryoer. Følg laboratoriets individuelle protokoller.

Følgende er anbefalinger for proteintilførsel baseret på indikationerne for anvendelse af MHM:

Til oprensning af sæd:

Ved brug af FUJIFILM Irvine Scientific Inc. humant serumalbumin (HSA) 100 mg/ml opløsning, skal der anvendes 5 mg/ml. Til 10 ml medium tilsættes 0,5 ml HSA-opløsning til 9,5 ml medium. Ved brug af FUJIFILM Irvine Scientific, Inc. Serum Substitute Supplement (SSS) opløsning med 50 mg/ml protein skal der anvendes 10 % (v/v). Til 10 ml medium tilsættes 1,0 ml SSS til 9,0 ml medium.

Til udtagning af oocytter:

Ved brug af HSA 100 mg/ml opløsning anvendes 5 mg/ml. Til 10 ml medium tilsættes 0,5 ml HSA-opløsning til 9,5 ml medium. Ved brug af SSS opløsning med 50 mg/ml protein anvendes 10 % (v/v). Til 10 ml medium tilsættes 1,0 ml SSS til 9,0 ml medium.

Til embryotransferering:

Ved brug af HSA 100 mg/ml opløsning anvendes 30 mg/ml. Til 10 ml medium tilsættes 3,0 ml HSA-opløsning til 7,0 ml medium. Ved brug af SSS opløsning med 50 mg/ml protein anvendes 50 % (v/v). Til 10 ml medium tilsættes 5,0 ml SSS til 5,0 ml medium.

BRUGSANVISNING

Følgende er generelle procedurer for indikationer for anvendelse af MHM.

Oprensning af sæd:

Den generelle procedure for oprensning af sæd fra den omgivende sædvæske omfatter:

1. Bring mediet til stuetemperatur eller 37 °C.
2. Lad sæden blive flydende ved stuetemperatur i 20-30 minutter.
3. Anvend aseptisk teknik, og overfør den flydende sæd til et steril, konisk 10 ml centrifugerør, og tilsæt 2-3 volumener stuetempereret MHM (f.eks. kræver 2 ml sædprøve 4-6 ml medium). Hvis volumenen af blandingen af sæd og medium er større end 5 ml, skal den fordeles i to sterile koniske centrifugerør. Ved at minimere volumenen pr. rør til 4-6 ml, maksimeres restitutionen af sæd. Prøver med høj viskositet kan nødvendiggøre yderligere behandling for at sikre total restitution af sæden. (Se afsnittet Overvejelser vedrørende specialbehandling).
4. Centrifuger rørene ved stuetemperatur i 10 minutter ved 200-300 x g.
5. Brug en steril pipette til at fjerne og bortskaffe supernatanten over "pellet" vha. aspiration. Sædcellerne skal dernæst resuspenderes ved forsigtigt at knipse udvendigt på røret med pegefingeren. (Bemærk: Brug ikke en vortexmixer til dette trin). Resuspender sæden i 1-2 ml friskt medium, sæt låget på igen og bland forsigtigt ved inversion. Prøver, som blev fraktioneret ved det første centrifugeringstrin skal nu kombineres igen i ét rør.
6. Centrifuger igen som i trin 4.
7. Brug en steril pipette til at fjerne og bortskaffe supernatanten. Resuspender forsigtigt sædcellerne (pellet) vha. manuel omrystning. Tilsæt friskt medium til en endelig volumen på 0,5 ml. Sædcellerne er klar til assisteret reproduktionsbehandling. (Bemærk: Den totale volumen af den ikke-gravide uterus er 15-56 ml).

OVERVEJELSER VEDRØRENDE SPECIALBEHANDLING

Behandling af sædprøven med høj viskositet:

Nogle prøver har en naturlig høj viskositet, selv efter likvefktion. Disse prøver har samme konsistens som tyk sirup og kan være blandt de vanskeligste at behandle.

1. Når mediet er tilsat til et ejakulat, aspireres og udstødes blandingen forsigtigt vha. en 18 G nål og en sprøjte. Dette vil "splitte" noget af det viskøse slim ad.
2. Begræns mængden af blandingen af medium og sæd fra trin 1 til 5 ml pr. centrifugerør til første centrifugeringstrin.
3. Hvis prøven er blevet forbehandlet med nål og sprøjte (trin 1), og sædcellerne ikke samler sig på normal vis (sædcellerne vil se ud som en uklar trævl forbundet til bunden af centrifugerøret), skal så meget som muligt af supernatanten aspireres med en steril nål og sprøjte, uden at den uklare trævl af sædceller ødelægges. Det kan gøres ved at holde nålespidsens skrånende fast ind mod indersiden af centrifugerøret og langsomt starte aspiration fra toppen af røret og nedefter. Når så meget som muligt af supernatanten er fjernet, tilsættes 2 eller 3 ml friskt medium. Gentag processen med at trække blandingen gennem 18 G nålen og sprøjten. Centrifuger blandingen igen. Sædcellerne skal samle sig (pellet) på normal vis efter anden behandling.

4. Ved efterfølgende prøveindsamling skal patienten bedes om at aflevere et opdelt ejakulat, som kan minimere viskositeten i den sædriige del af prøven.

Udtagning af oocytter (ikke til skylning af ægfollikler):

MHM kan tilsættes kvalitetstestet farmaceutisk heparin (2,5-10 enheder/ml) for at reducere koagulation af follikelpunktat, der indeholder blod.

1. Bring proteintilsat medium til stuetemperatur eller 37 °C.
2. Det udtagne follikelpunktat skal overføres til en tom, steril skål.
3. Identificer oocytterne, og fjern dem fra follikelvæsken og mulig kontamination med blod ved brug af steril pipetter, der er forskyllet og tilsat med MHM.
4. Skyl oocytterne i opvarmet MHM med tilsætning.
5. Anbring oocytterne i et ækvilibreret dyrkningsmedium til videre håndtering.

Embryotransferering:

Overfør embryoer fra dyrkningsmedium på 3. eller 5. dag:

1. På 3. eller 5. dag efter vurdering af embryoernes udvikling bringes mediet, tilsat protein, til stuetemperatur eller 37 °C.
2. Forbered en steril vaskeskål med forvarmet proteintilsat MHM til hvert sæt embryoer.
3. Anbring 1,0 ml af det forvarmede proteintilsatte MHM i brønden på en steril skål med 1 brønd.
4. Stil vaskeskålen på et opvarmet objektbord.
5. Vask embryoerne i vaskeskålen ved at tage dem op 2-3 gange og bevæg dem rundt i en minimal mængde af det forvarmede proteintilsatte MHM i brønden.
6. Efter vask er embryoerne klar til transferering til patienten.

For yderligere oplysninger om brug af MHM skal hvert laboratorium følge sine egne procedurer og protokoller, som er blevet specifikt udviklet og optimeret til laboratoriets eget medicinske program.

ANVISNINGER FOR OPBEVARING OG STABILITET

Uåbnede flasker opbevares i køleskab ved 2-8 °C.

Må ikke fryses eller udsættes for temperaturer over 39 °C.

Holdbarhed efter flaskeåbning:

Produktet skal anvendes inden for fem (5) uger ved opbevaring under de anbefalede forhold på 2-8 °C.

FORHOLDSREGLER OG ADVARSLER

Dette produkt er beregnet til brug af personale, der er uddannet i assisteret reproduktionsprocedurer. Disse procedurer inkluderer den anvendelse, som produktet er beregnet til. Dette produkt er ikke beregnet til brug ved skylning af ægfollikler. Disse medier er ikke beregnet til brug ved skylning af oocytter.

Den institution, som bruger produktet, er ansvarlig for at opretholde sporbarheden af produktet og skal, hvor det er muligt, overholde gældende, nationale bestemmelser for sporbarhed.

Anvend ikke flasker med medium, der viser tegn på partikler eller uklarethed.

Låget på MHM skal sidde tæt til ved brug i en CO₂-inkubator for at undgå pH-værdier på 7,0 eller derunder.

Undgå problemer med kontamination ved at bruge aseptiske teknikker, og bortskaf eventuelt overskydende medium i flasken eller hætteglasset efter endt procedure.

KONTRAIKATION

Dette produkt indeholder gentamicinsulfat. Passende forholdsregler skal overholdes for at sikre, at patienten ikke er sensibiliseret mod dette antibiotikum.

SUOMI

EU-VAROITUS: Vain ammattikäyttöön

KÄYTTÖAIHE

Gentamysiinisulfaattia sisältävä MHM on tarkoitettu avusteisiin lisääntymismenetelmiin, joihin liittyy gameettien tai alkioiden manipulointia. MHM on erityisesti tarkoitettu oosyyttien keruuliuokseksi munarakkuloiden aspiraatiomenetelmien (ei munarakkuloiden huuhtelun) aikana, siittiöiden pesemiseen ennen koeputki- ja mikrohedelmöitysmenetelmiä sekä alkion kohtuun siirtämiseen (alkionsiirto menetelmien aikana).

VÄLINEEN KUVAS

MHM on kaksoispuksuroitu liuos (HEPES ja MOPS), jolla saadaan turvallinen ja varma ympäristö gameettien ja alkioiden elinkyvyn säilyttämiseksi ympäröivissä olosuhteissa manipulointien aikana. Se on monipuolinen liuos swim up -menetelmään, siittiöiden pesuun, oosyyttien keräämiseen ja huuhteluun, kohdunsisäiseen inseminaatioon, koeputkihedelmöitykseen ja alkionsiirtoon. Tuotteeseen on lisättävä proteiinitäydennystä. MHM sisältää gentamysiinisulfaatti-antibioottia 10 µg/ml.

LAADUNVARMENNUS

MHM on käsittelyliuos, joka on kalvosuodatettu ja aseptisesti käsitelty valmistusmenetelmillä, jotka on validoitu vastaamaan steriiliystasoa (SAL) 10³.

Jokainen MHM-erä testataan seuraavilla testeillä: endotoksiini Limulus Amebocyte Lysate (LAL) -menetelmällä (≤ 0,25 EU/ml) biologinen yhteensopivuus hiiren alkio määräytyksellä (yksi solu laajenee ≥ 80-prosenttisesti blastokysteiksi 96 h:n kohdalla) steriiliys nykyisellä USP-steriiliytestillä <71> ihmisen siittiöiden elonjäämismääritys (HSSA) (≥ 70 %:n motiiliteetti 24 h:n kohdalla).

Kaikki koetulokset ilmoitetaan eräkohtaisesti analyysitodistuksessa, joka on pyynnöstä saatavissa.

KOOSTUMUS:	
Suolat ja ionit	pH-indikaattori
natriumkloridi	fenolipuna
kaliumpkloridi	
magnesiumsulfaatti	Puskuri
kaliumposfaatti	natriumbikarbonaatti
kalsiumkloridi	HEPES
	MOPS
Aminohapot	
glysiini	Energiasubstraatti
tauriini	natriumlaktaatti
	glukoosi
Antibiootti	natriumpyruvaatti
gentamysiinisulfaatti	
	Yesi
	injektioneesteisiin tarkoitetun veden laatuinen

PUSKURIJÄRJESTELMÄ

MHM-liuoksessa on puskurijärjestelmä, jossa on yhdistettynä HEPES-puskuria (N-2-hydroksietyyli-piperatsiini-N'-2-etaanisulfonihappoa), MOPS-puskuria (3-morfolinopropani-1-sulfonihappoa) ja natriumbikarbonaattia. Tämä puskurijärjestelmä tarjoaa pH:n ylläpidon fysiologisissa rajoissa (7,2–7,4) eikä edellytä CO₂-lämpökaapin käyttöä.

PROTEIINITÄYDENNYS

MHM ei sisällä proteiinikomponentteja. Proteiinitäydennyksen määrä voi vaihdella laboratoriorosta toiseen ja riippuu gameettien ja alkioiden käsittelyn/viljelyn vaiheesta. Noudata oman laboratorion ohjeita.

Seuraavassa annetaan MHM-liuoksen käyttöaiheita vastaavat proteiinitäydennystä koskevat suositukset:

Siittiöiden pesu:

Kun käytetään FUJIFILM Irvine Scientific Inc. -yhtiön Human Serum Albumin (HSA) -liuosta (100 mg/ml), käytä pitoisuutena 5 mg/ml. 10 ml viljelyliuosta saadaan lisäämällä 0,5 ml HSA-liuosta 9,5 ml:aan viljelyliuosta. Kun käytetään FUJIFILM Irvine Scientific, Inc. -yhtiön Serum Substitute Supplement (SSS) -proteiiniliuosta (50 mg/ml), käytä sitä

10-prosenttisena (tilavuus/tilavuus). 10 ml viljelyliuosta saadaan lisäämällä 1,0 ml SSS-liuosta 9,0 ml:aan viljelyliuosta.

Oosyyttien keruu:

Kun käytetään HSA-liuosta (100 mg/ml), käytä pitoisuutena 5 mg/ml. 10 ml viljelyliuosta saadaan lisäämällä 0,5 ml HSA-liuosta 9,5 ml:aan viljelyliuosta. Kun käytetään SSS-proteiiniliuosta (50 mg/ml), käytä sitä 10-prosenttisena (tilavuus/tilavuus). 10 ml viljelyliuosta saadaan lisäämällä 1,0 ml SSS-liuosta 9,0 ml:aan viljelyliuosta.

Alkion siirto:

Kun käytetään HSA-liuosta (100 mg/ml), käytä pitoisuutena 30 mg/ml. 10 ml viljelyliuosta saadaan lisäämällä 3,0 ml HSA-liuosta 7,0 ml:aan viljelyliuosta. Kun käytetään SSS-proteiiniliuosta (50 mg/ml), käytä sitä 50-prosenttisena (tilavuus/tilavuus). 10 ml viljelyliuosta saadaan lisäämällä 5,0 ml SSS-liuosta 5,0 ml:aan viljelyliuosta.

KÄYTTÖOHJEET

Seuraavassa annetaan MHM-liuoksen käyttöaiheita vastaavat yleiset toimenpiteet.

Siittiöiden pesu:

Seuraavassa on yleiskuvaus siittiöiden pesumenettelystä, jolla siittiöt eristetään niitä ympäröivästä siemennesteestä:
1. Lämmitä elatusaine huoneenlämpöön 37 °C.

- Anna siemennesteen nesteytyä huoneenlämmössä 20–30 minuutin ajan.
- Siirrä aseptista menettelyä käyttäen nestemäinen siemenneste steriiliin 10 ml:n kartiopohjaiseen sentrifugiputkeen ja lisää siihen 2–3-kertainen tilavuus huoneenlämpöistä MHM-liuosta (esimerkiksi 2 ml:n spermanäytteeneseen tarvitaan 4–6 ml liuosta). Jos siemennesteeseen ja liuoksen seoksen tilavuus on suurempi kuin 5 ml, jaa kahteen steriiliin kartiomaiseen sentrifugiputkeen. Käytä putkea kohden pientä 4–6 ml:n tilavuutta, jolloin siittiöiden talteenotto on mahdollisimman suurta. Erittäin viskoosit näytteet saattavat edellyttää lisäkäsittelyä siittiöiden täydellistä talteenottoa varten. (Katso kohta Erityiset käsittelynäkökohdat.)
- Sentrifugoi putkia ympäröivässä lämpötilassa 10 minuutin ajan kiihtyvyydellä 200–300 x g.
- Käytä steriiliä pipettä ja poista ja hävitä siittiöpelletin päällä oleva supernatantti aspiriomalla. Siittiöt on sitten suspendoitava varovasti uudelleen putkea ulkoapäin etusormella napsauttamalla. (Huomautus: Älä käytä Vortex-sekoitinta tässä vaiheessa.) Uudelleenuspendoi siittiöt 1–2 ml:aan tuoretta liuosta, sulje uudestaan korkilla ja sekoita varovasti kääntelemällä. Ensimmäistä sentrifugointivaihetta varten erotellut näytteet on nyt yhdistettävä uudelleen yhteen putkeen.
- Sentrifugoi valmiste uudelleen kuten vaiheessa 4.
- Käytä steriiliä pipettä ja poista ja hävitä supernatantti. Suspendoi siittiöpelletti varovasti uudelleen käsin ravistelemalla. Lisää tuoretta elatusainetta, kunnes lopputilavuus on 0,5 ml. Siittiöt ovat nyt valmiina avusteisia lisääntymismenetelmiä varten. (Huomautus: Kohdun normaali kokonaistilavuus [ei raskauden aikana] on 15–56 ml.)

ERITYISET KÄSITTELYNÄKÖKOHDAT

Erittäin viskoosin spermanäytteen käsittely:
Jotkin näytteet ovat luonnostaan erittäin viskooseja nesteytyksen jälkeenkin. Näiden väleiden rakenne muistuttaa paksua siirappia, ja niiden käsittely voi olla vaikeinta.
1. Kun elatusaine on lisätty ejakulaattiin, aspiroi ja työnnä seos varovasti 18 G:n neulan läpi ruiskuun. Tämä käsittely leikkaa osan viskoosista limasta.
2. Rajoita vaiheen 1 luoksen ja siittiönesteen seos 5 ml:aan sentrifugiputkea kohti ensimmäistä sentrifugointivaihetta varten.
3. Jos neulalla ja ruiskulla tehtävän näytteen esikäsitellyn (vaihe 1) jälkeenkään siittiöt eivät muodosta pellettä tavalliseen tapaan (siittiöt näyttävät samealta säikeeltä, joka on kiinnittynyt sentrifugiputken pohjaan), aspiroi steriilillä neulalla ja ruiskulla varovasti niin paljon supernatanttia kuin mahdollista sameaa siittiösiäettä

rikkomatta. Tämä voidaan tehdä pitämällä neulan särmäreunaa lujasti sentrifugiputken seinämää päin ja aloittamalla aspiraatio hitaasti putken yläosasta alaspäin. Kun mahdollisimman paljon supernatanttia on poistettu, lisää 2–3 ml tuoretta elatusainetta. Toista menetelmä, jossa seos vedetään 18 G:n neulan läpi ruiskuun. Sentrifugoi seos uudelleen. Toisen käsittelyn jälkeen siittiöiden pitäisi muodostaa pelletti tavalliseen tapaan.

- Seuraavien näytteenottojen yhteydessä potilasta on pyydyttävä antamaan ejakulaatti kahdessa osassa, sillä tämä vähentää näytteen runsassiittiöisen osuuden viskositeettia.

Oosyyttien kerääminen (ei munarakkuloiden huuhtelamiseen):

MHM-liuosta voidaan täydentää laadultaan testatulla farmaseuttisen laadun hepariinilla (2,5–10 yksikköä/ml) verta sisältävien munarakkula-aspiraattien hyytymisen vähentämiseksi.

- Anna proteiinitäydennetyin liuoksen lämmetä huoneenlämpötilaan tai 37 °C:seen.
- Kerätyt munarakkula-aspiraatit on siirrettävä tyhjälle, steriilille maljalle.
- Tunnista oosyytit ja poista ne munarakkulanesteestä ja mahdollisesta verikontaminaatiosta steriileillä pipeteillä, jotka on esihuuhdeltu täydennetyllä MHM-liuoksella.
- Huuhtele oosyytit lämmityssä ja täydennetyssä MHM-liuoksessa.
- Aseta oosyytit tasapainotettuun elatusaineeseen lisäkäsittelyä varten.

Alkionsiirto:

Siirrä alkiot elatusaineesta päivänä 3 tai päivänä 5:

- Päivänä 3 tai päivänä 5, alkioiden kehittymisen arvioimisen jälkeen, anna proteiinitäydennetyin liuoksen lämmetä huoneenlämpötilaan tai 37 °C:seen.
- Aseta valmiiksi yksi steriili pesumalja, joka sisältää ennalta lämmitettyä, proteiinitäydennettyä MHM-liuosta, kullekin alkiosarjalle.
- Lisää 1,0 ml ennalta lämmitettyä, proteiinitäydennettyä MHM-liuosta steriiliin 1-kuoppaisen maljan kuoppaan.
- Aseta pesumalja lämmitylle alustalle.
- Pese alkioita pesumaljassa poimimalla alkiot 2–3 kertaa ja liikuttelemalla niitä minimaalisessa määrässä ennalta lämmitettyä, proteiinitäydennettyä MHM-liuosta kuopan sisällä.
- Kun alkiot on pesty, ne ovat valmiina potilaaseen siirrettäväksi.

Kunkin laboratorion tulee katsoa lisäohjeet MHM-liuoksen käyttöä varten omista laboratorioikäytäntö- ja protokollaohjeistaan, jotka on varta vasten kehitetty ja optimoitu omaa terveydenhuolto-ohjelmaa varten.

SÄILYTYSOHJEET JA STABILIUUS

Säilytä avaamattomat pullot jääkaapissa 2–8 °C:ssa.

Ei saa jäätyä eikä altistaa yli 39 °C:n lämpötiloille.

Kestävyys pullon avaamisen jälkeen:

Tuote tulee käyttää viiden (5) viikon sisällä avaamisesta, kun sitä säilytetään suositelluissa 2–8 °C:n olosuhteissa.

VAROIMET JA VAROITUKSET

Tämä väline on tarkoitettu avusteisiin lisääntymismenetelmiin koulutetun henkilöstön käyttöön. Näihin menetelmiin kuuluu välineen käyttöaiheen mukainen tarkoitettu käyttö. Tätä välinettä ei ole tarkoitettu munarakkuloiden huuhtelutoimenpiteeseen. Tätä liuosta ei ole tarkoitettu käytettäväksi oosyyttien huuhtelutoimenpiteissä.

Tämän välineen käyttäjälaitoksen vastuulla on säilyttää tuotteen jäljitettävyyys, ja laitoksen on noudatettava jäljitettävyyttä koskevia asianmukaisia kansallisia säännöksiä.

Älä käytä mitään liuospulloa, jos liuoksessa näkyy hiukkasia tai jos se on sameaa.

Kun MHM-liuosta käytetään CO₂-lämpökaapissa, korkin tulee olla tiukasti suljettu, jotta vältetään pH-tason laskeminen arvoon 7,0 tai sen alle.

Kontaminaatio-ongelmien välttämiseksi käsittelyssä tulee noudattaa aseptisia menetelmiä. Kaikki pulloon jäänyt ylimääräinen liuos on hävitettävä toimenpiteen päätyttyä.

VASTA-AIHE

Tuote sisältää gentamysiinisulfaattia. Tarkoituksen mukaisia varokeinoja tulee käyttää sen varmistamiseksi, ettei potilas ole herkinnyt kyseiselle antibiootille.

LATVISKI

ES BRĪDINĀJUMS: tikai profesionālai lietošanai.

LIETOŠANAS INDIKĀCIJA

MHM ar gentamicīna sulfātu paredzēta lietošanai ar palīgīdzejkiem veicamās reproduktīvās procedūrās, kuras ietver manipulācijas ar gametām un embrijiem. *MHM* ir īpaši indicēta lietošanai kā oocītu paņemšanas barotne olnīcu folikulu aspirācijas procedūrās (nav paredzēta olnīcu folikulu skalošanai), spermatozoīdu skalošanai pirms *IVF* un *ICSI*/ apauguļošanas procedūrām, kā arī embrija transportēšanai uz dzemdi embrija pārņemšanas procedūrās.

IERĪCES APRĀKSTS

MHM ir duāls buferšķīdums (HEPES un MOPS), kas rada drošu vidi, lai uzturētu gametu un embriju dzīvotspēju, veicot manipulācijas apkārtējās vides temperatūrā. Tas ir plaša pielietojuma šķīdums uzpeldēšanas preparātu sagatavošanai, spermatozoīdu skalošanai, oocītu paņemšanai un skalošanai, *IUI*, *ICSI* un embriju transportēšanai. Produktam nepieciešama proteīna piedeva. *MHM* satur 10 µg/ml antibiotiku gentamicīna sulfātu.

KVALITĀTES NODROŠINĀŠANA

MHM ir apstrādes vide, kas filtrēta caur membrānu un aseptiski apstrādāta saskaņā ar apstiprinātām ražošanas procedūrām, kas atbilst sterilitātes garantijas līmenim (*sterility assurance level* – *SAL*) 10⁻³.

Katrai *MHM* partijai tiek pārbaudīts tālāk norādītais.

Endotoksīni – ar *Limulus* amebocīta izžāta (LAL) metodi (≤ 0,25 EV/ml).

Bioloģiskā saderība – ar peles embrija pārbaudi (no vienas šūnas ≥ 80 % paplašinājā blastocīstu 96 h laikā).

Sterilitāte – ar pašreizējo ASV Farmakopejas (*USP*) sterilitātes testu <71>.

Civēka spermatozoīdu izdzīvošanas pārbaude (*Human Sperm Survival Assay* – *HSSA*) (≥ 70 % no sākotnējā kustīguma pēc 24 stundām).

Visi rezultāti tiek ziņoti katrai partijai īpašā analizēs sertifikātā, kas ir pieejams pēc pieprasījuma.

SASTĀVS	
<u>Sāļi un joni</u>	<u>Buferšķīdums</u>
Nātrija hlorīds	Nātrija bikarbonāts
Kālija hlorīds	HEPES
Magnija sulfāts	MOPS
Kālija fosfāts	<u>Enerģijas substrāti</u>
Kalcija hlorīds	Nātrija laktāts
<u>Aminoskābes</u>	Glikoze
Glicīns	Pirovīnogskābes
Taurīns	nātrija sāls
<u>Antibiotikas</u>	<u>Ūdens</u>
Gentamicīna sulfāts	Injekciju ūdens (<i>WFI</i>) kvalitāte
<u>pH indikators</u>	
Fenolsarkanais	

BUFERSISTĒMA

MHM tiek izmantota bufersistēma, ko veido HEPES (N-2-hidroksietilpiperazīn-N'-2-etānsulfonskābe), MOPS (3 morfolīnpropān-1-sulfonskābe) un nātrija bikarbonāta kombinācija. Šī bufersistēma nodrošina pH līmeņa saglabāšanu fizioloģiskajām robežām atbilstošā diapazonā (no 7,2 līdz 7,4), un tai nav nepieciešama CO₂ inkubatora izmantošana.

PROTEĪNU PIEDEVAS

MHM nesatur proteīnu piedevas. Proteīnu piedevu daudzums var atšķirties dažādās laboratorijās un ir atkarīgs no gametu un embriju apstrādes/augšanas fāzes. Ņemiet vērā savas konkrētās laboratorijas protokolus.

Tālāk norādīti ieteikumi proteīnu piedevu pievienošanai atbilstīgi *MHM* lietošanas indikācijām.

Spermatozoīdu skalošanai

Izmantojot „FUJIFILM Irvine Scientific Inc.” cilvēka seruma albumīna (*human serum albumin* – *HSA*) 100 mg/ml šķīdumu, izmantojiet koncentrācijā 5 mg/ml. Lai iegūtu 10 ml barotnes, 9,5 ml barotnes pievienojiet 0,5 ml *HSA* šķīduma. Izmantojot „FUJIFILM Irvine Scientific, Inc.” seruma aizstājēja piedevas (*serum substitute supplement* – *SSS*) 50 mg/ml proteīnu šķīdumu, izmantojiet koncentrācijā 10 % (v/v). Lai iegūtu 10 ml barotnes, 9,0 ml barotnes pievienojiet 1,0 ml *SSS*.

Oocītu paņemšanai

Izmantojot *HSA* 100 mg/ml šķīdumu, izmantojiet koncentrācijā 5 mg/ml. Lai iegūtu 10 ml barotnes, 9,5 ml barotnes pievienojiet 0,5 ml *HSA* šķīduma. Izmantojot *SSS* 50 mg/ml proteīnu šķīdumu, izmantojiet 10 % (v/v). Lai iegūtu 10 ml barotnes, 9,0 ml barotnes pievienojiet 1,0 ml *SSS*.

Embrija pārņemšanai

Izmantojot *HSA* 100 mg/ml šķīdumu, izmantojiet koncentrācijā 30 mg/ml. 10 ml barotnei pievienojiet 3,0 ml *HSA* šķīduma 7,0 ml barotnes. Izmantojot *SSS* 50 mg/ml proteīnu šķīdumu, izmantojiet koncentrācijā 50 % (v/v). 10 ml barotnei pievienojiet 5,0 ml *SSS* 5,0 ml barotnes.

LIETOŠANAS NORĀDĪJUMI

Tālāk aprakstītas vispārējās procedūras *MHM* lietošanas indikācijām.

Spermatozoīdu skalošana

Tālāk aprakstīta vispārēja procedūra spermatozoīdu noskalošanai no ietverošā sēklas šķidruma.

- Uzsildiet barotni līdz istabas temperatūrai vai 37 °C.
- Ļaujiet, lai sperma 20–30 minūtes sašķīdriņās istabas temperatūrā.
- Aseptiskā veidā sašķīdriņāto spermu pārnesiet sterilā 10 ml koniskā centrifūgas stobriņā un pievienojiet 2–3 reizes lielāku daudzumu istabas temperatūras *MHM* (piemēram, 2 ml spermas parauga nepieciešami 4–6 ml barotnes). Ja spermatozoīdu barotnes maisījuma daudzums pārsniedz 5 ml, sadaliet to divos sterilos konusveida centrifūgas stobriņos, samazinot katra stobriņa apjomu par 4–6 ml, tādējādi palielinot spermatozoīdu iegūšanu. Lielas viskozitātes paraugiem var būt nepieciešama turpmāka apstrāde, lai nodrošinātu spermatozoīdu pilnīgu atdzīvināšanu. (Skatīt sadaļu „Speciālās apstrādes apsvērumi”).
- Centrifugējiet stobriņus apkārtējās vides temperatūrā 10 minūtes ar smaguma spēka paātrinājumu 200–300 x g.
- Aspirējot ar sterilu pipeti, ņemiet un likvidējiet supernatantu vīrs „spermatozoīda lodītes”. Pēc tam spermatozoīds atkārtoti jāsuspendē, ar rādītājpirkstu viegli uzsilot pa stobriņu no ārpuses. (Piezīme: šajā posmā neizmantojiet virpuļmaisītāju). Spermatozoīdu atkārtoti suspendējiet jaunā 1–2 ml barotnē, atkārtoti uzlieciet vāciņu un samaisiet, uzmanīgi apvēršot otrādi. Pirmajai centrifugēšanai frakcionētie paraugi tagad atkārtoti jāapvieno vienā stobriņā.
- Centrifugējiet atkārtoti, kā aprakstīts 4. darbībā.
- Ar sterilu pipeti ņemiet un likvidējiet supernatantu un uzmanīgi atkārtoti suspendējiet spermatozoīda lodīti, manuāli sakratot. Pievienojiet svaigu barotni, iegūstot galīgo tilpumu 0,5 ml. Spermatozoīdi ir gatavi ar palīgīdzejkiem veicamām reproduktīvajām procedūrām. (Piezīme: kopējais dzemdes tilpums, neesot grūtniecības stāvoklī, ir 15–56 ml).

SPECIĀLĀS APSTRĀDES APSVĒRUMI

Ļoti viskozās spermas parauga apstrāde

Dāžiem paraugiem piemīt dabiska, augsta viskozitāte, arī pēc sašķīdriņāšanas. Šiem paraugiem ir bieza sīrupa konsistence, tāpēc to apstrāde var būt no grūtākajām.

- Pēc barotnes pievienošanas ejakulātam ar 18 G adatu un šļirci uzmanīgi aspirējiet un izvadiet maisījumu. Tādējādi tiks „nokniebta” daļa viskozo gļotu.
- Pirmajai centrifugēšanai 1. darbībā izmantojamo barotnes-spermatozoīdu maisījuma daudzumu katrā centrifūgas stobriņā ierobežojiet līdz 5 ml.

- Ja pēc parauga pirmsapstrādes ar adatu un šļirci (1. darbība) spermatozoīds normāli neizveido „lodīti” (spermatozoīds izskatīsies kā „duļķaina šķiedra”, kas piestiprinājiesies centrifūgas stobriņa apakšdaļai), ar sterilu adatu un šļirci uzmanīgi aspirējiet tik daudz supernatanta, cik iespējams, nepārraujot „duļķaino spermatozoīda šķiedru”. To var izdarīt, cieši piespiežot adatas sīlpo galu centrifūgas stobriņa sienai un lēni sākot aspirēt no stobriņa augšas virzienā uz leju. Kad atdalīts tik daudz supernatanta, cik iespējams, pievienojiet 2 vai 3 ml svaigas barotnes. Atkārtojiet procedūru, ievelkot maisījumu caur 18 G adatu un šļirci. Centrifugējiet maisījumu atkārtoti. Pēc otrās apstrādes spermatozoidam normāli vajadzētu izveidot lodīti.
- Turpmākai paraugu ņemšanai pacientam jālūdz nodalīt ejakulātu, kas mazinās ar spermatozoidiem bagātīgas parauga daļas viskozitāti.

Oocītu paņemšana (nav paredzēts olnīcu folikulu skalošanai)

lai samazinātu asinis saturošā folikulu aspirāta recēšanu, *MHM* drīkst papildināt ar farmaceutiskās kategorijas heparīnu (2,5–10 vienības/ml), kura kvalitāte ir pārbaudīta.

- Uzsildiet barotni, kas ir papildināta ar proteīnu, līdz istabas temperatūrai vai 37 °C.
- Savāktie folikulu aspirāti jāpārvieto uz tukšu sterilu trauku.
- Identificējiet oocītus un izņemiet tos no folikulu šķidruma un iespējamās asiņu kontaminācijas, izmantojot sterilas pipetes, kas iepriekš skalotas ar papildinātu *MHM*.
- Skalojiet oocītus sasilītā un papildinātā *MHM*.
- Ievietojiet oocītus līdzsvarotā kultivēšanas barotnē tālakai apstrādei.

Embriju pārņemšana

Pārnesiet embrijus no kultūras barotnes 3. vai 5. dienā.

3. vai 5. dienā pēc embriju attīstības novērtēšanas uzsildiet ar proteīnu papildinātu barotni līdz istabas temperatūrai vai 37 °C.
- Katram embriju traukam sagatavojiet vienu sterilu trauku, kas satur iepriekš uzsildītu, ar proteīnu papildinātu *MHM*.
- Ievietojiet 1,0 ml iepriekš uzsildīta, ar proteīnu papildināta *MHM* sterilā 1 šūnas trauka šūnā.
- Novietojiet skalošanas trauku uz uzsildītas virsmas.
- Noskalojiet embrijus skalošanai paredzētajā traukā, paceļot embrijus 2–3 reizes un minimālā apjomā pavirzot tos trauka šūnā, kurā atrodas uzsildīts, ar proteīnu papildināts *MHM*.
- Pēc embriju noskalošanas tie ir gatavi ievietošanai pacientē.

Papildu informācija par *MHM* lietošanu meklējama katras laboratorijas procedūru aprakstos un protokolos, kas īpaši izstrādāti un optimizēti individuālajai medicīniskajai programmai.

GLABĀŠANAS NORĀDĪJUMI UN STABILITĀTE

Neatvērtas pudeles glabāt atdzesētas 2–8 °C temperatūrā.

Nesaldēt un nepaļaut par 39 °C augstākas temperatūras iedarbībai.

Izmantojamība pēc pudeles atvēršanas
Produkts jāizlieto (5) nedēļu laikā pēc atvēršanas, ja to glabā ieteicamajos apstākļos 2–8 °C temperatūrā.

PIESARDZĪBAS PASĀKUMI UN BRĪDINĀJUMI

Šī ierīce ir paredzēta lietošanai darbiniekiem, kas apguvuši ar palīgīdzejkiem veicamas reproduktīvās procedūras. Šīs procedūras ietver norādīto pielietojumu, kam šī ierīce ir paredzēta. Šī ierīce nav paredzēta olnīcu folikulu skalošanas procedūrai. Šī barotne nav paredzēta oocītu skalošanas procedūrām.

Par produkta izsekojamības uzturēšanu atbild šīs ierīces lietotāja iestāde, kurai jāievēro valsts noteikumi par izsekojamību, ja tādi ir.

Nelietojiet nevienu barotnes pudeli, kurā redzamas daļiņas vai duļķainums.

Lai nepieļautu pH līmeņa 7,0 vai zemāka veidošanos, lietojot CO₂ inkubatorā, visiem *MHM* jābūt cieši noslēgtiem.

Lai izvairītos no kontaminācijas radītām problēmām, rīkojieties aseptiskā veidā un pēc procedūras pabeigšanas likvidējiet pudelē vai flakonā pārpalikušo barotni.

KONTRINDIKĀCIJAS

Produkts satur gentamicīna sulfātu. Lai izvairītos no paaugstinātas pacienta jutības pret šo antibiotiku, jāveic atbilstoši piesardzības pasākumi.

NEDERLANDS

WAARSCHUWING (EU): Alleen voor professioneel gebruik.

INDICATIE VOOR GEBRUIK

MHM met gentamicinesulfaat is bedoeld voor gebruik bij geassisteerde voortplantingsprocedures waarbij gemeet- of embryomanipulatie plaatsvindt. MHM is specifiek geïndiceerd voor gebruik als een medium voor het verzamelen van oöcyten tijdens ovariumfollikelaspriaties (niet voor het spoelen van ovariumfollikels), het wassen van sperma vóór ivf- en ICSI-bevruchtingsprocedures en voor het overbrengen van het embryo naar de uterus tijdens embryotransferprocedures.

BESCHRIJVING VAN HET HULPMIDDEL

MHM is een tweeledig gebufferde oplossing (HEPES en MOPS) dat een veilige omgeving vormt voor het behoud van de levensvatbaarheid van gameten en embryo's tijdens manipulaties onder omgevingscondities. Het is een veelzijdige oplossing voor zwempreparatie, spermawassen, het ophalen en spoelen van oöcyten, IUI, ICSI en embryotransfer. Dit product vereist toevoeging van eiwitten. MHM bevat 10 µg/ml van het antibioticum gentamicinesulfaat.

KWALITEITSBORING

MHM is een behandelingsmedium dat membraangefilterd en op aseptische wijze verwerkt is volgens productieprocedures die zijn gevalideerd voor een Sterility Assurance Level (SAL) van 10⁻³.

Elke partij MHM is getest op:

- Endotoxine middels de Limulus Amebocyte Lysate (LAL)-methode (≤ 0,25 EU/ml)
- Biocompatibiliteit middels muisembryoassay (eencellig met ≥ 80% geëxpandeerde blastocysten na 96 uur)
- Steriliteit middels de huidige Amerikaanse Farmacopee (USP) steriliteitstest <7>
- Menselijk spermaoverlevingsassay (HSSA) (≥ 70% motiliteit na 24 uur)

Alle resultaten worden gerapporteerd op een partijspecifiek analysecertificaat dat op verzoek beschikbaar is.

SAMENSTELLING:

<u>Zouten en ionen</u>	<u>pH-indicator</u>
Natriumchloride	Fenolrood
Kaliumchloride	
Magnesiumsulfaat	<u>Buffer</u>
Kaliumfosfaat	Natriumbicarbonaat
Calciumchloride	HEPES
	MOPS
<u>Aminozuren</u>	<u>Energiesubstraat</u>
Glycine	Natriumlactaat
Taurine	Glucose
	Natriumpyruvaat
<u>Antibioticum</u>	
Gentamicinesulfaat	
	<u>Water</u>
	Farmaceutisch
	kwaliteitswater (WFI)

BUFFERSYSTEEM

MHM bevat een buffersysteem bestaande uit een combinatie van HEPES (N-2-hydroxyethylpiperazine-N'-2-ethaansulfonzuur), MOPS (3 morfolinopropan-1-sulfonzuur) en natriumbicarbonaat. Dit buffersysteem biedt pH-behoud binnen het fysiologische bereik (7,2 tot 7,4) en vereist geen gebruik van een CO₂-incubator.

TOEVOEGING VAN EIWITTEN

MHM bevat geen eiwitcomponenten. De hoeveelheid toegevoegde eiwitten kan per laboratorium verschillen en is afhankelijk van de bewerkings-/groefase van de gameten en embryo's. Raadpleeg de protocollen van uw individuele laboratorium.

Hieronder volgen aanbevelingen voor het toevoegen van eiwitten op basis van de indicaties voor gebruik van MHM:

Voor spermawassen:

Bij gebruik van de 100 mg/ml oplossing menselijk serumalbumine (HSA) van FUJIFILM Irvine Scientific Inc. vult u het medium aan tot 5 mg/ml. Voor 10 ml medium voegt u 0,5 ml HSA-oplossing aan 9,5 ml medium toe. Bij gebruik van de 50 mg/ml eiwitoplossing Serum Substitute Supplement (SSS) van FUJIFILM Irvine Scientific Inc. vult u het medium aan tot 10% (v/v). Voor 10 ml medium voegt u 1,0 ml SSS aan 9,0 ml medium toe.

Voor het ophalen van oöcyten:

Bij gebruik van de 100 mg/ml HSA-oplossing vult u het medium aan tot 5 mg/ml. Voor 10 ml medium voegt u 0,5 ml HSA-oplossing aan 9,5 ml medium toe. Bij gebruik van de 50 mg/ml SSS-eiwitoplossing vult u het medium aan tot 10% (v/v). Voor 10 ml medium voegt u 1,0 ml SSS aan 9,0 ml medium toe.

Voor embryotransfer:

Bij gebruik van de 100 mg/ml HSA-oplossing vult u het medium aan tot 30 mg/ml. Voor 10 ml medium voegt u 3,0 ml HSA-oplossing aan 7,0 ml medium toe. Bij gebruik van de 50 mg/ml SSS-eiwitoplossing vult u het medium aan tot 50% (v/v). Voor 10 ml medium voegt u 5,0 ml SSS aan 5,0 ml medium toe.

GEBRUIKSAANWIJZING

Hieronder volgen algemene procedures voor de indicaties voor gebruik van MHM.

Spermawassen:

Hier volgt de algemene procedure voor het wassen van sperma uit het omringende zaadvocht:

- Breng het medium op kamertemperatuur of 37 °C.
- Laat het sperma gedurende 20 tot 30 minuten bij kamertemperatuur vloeibaar worden.
- Breng het vloeibaar geworden sperma op aseptische wijze over naar een steriel, conisch 10ml-centrifugeerbuisje en voeg 2 tot 3 volumes van op kamertemperatuur gebracht MHM toe (zo moet u bijvoorbeeld 4 tot 6 ml medium toevoegen aan een spermamonster van 2 ml). Als het volume van het sperma-mediummengsel meer dan 5 ml is, verdeelt u het mengsel over twee steriele conische centrifugeerbuisjes. Door het volume per buisje te beperken tot 4-6 ml, wordt het winnen van sperma geoptimaliseerd. Bij monsters met hoge viscositeit kan voor een volledige spermawinning verdere bewerking nodig zijn. (Zie het gedeelte 'Speciale bewerkingsoverwegingen'.)
- Centrifugeer de buisjes gedurende 10 minuten bij omgevingstemperatuur met een g-kracht van 200-300 x g.
- Aspireer met een steriele pipet het supernatant boven de 'spermapellet' en voer het af. Resuspender het sperma vervolgens door zachtjes met de wijsvinger tegen de buitenkant van het buisje te tikken. (NB: Gebruik voor deze stap geen vortexmenger.) Resuspender het sperma in 1 à 2 ml vers medium, doe de dop er weer op en meng voorzichtig door middel van inversie. Monsters die voor de eerste centrifugeerstep werden gefractioneerd, moeten nu weer in één buisje worden gecombineerd.
- Centrifugeer opnieuw zoals beschreven in stap 4.
- Verwijder met een steriele pipet het supernatant en voer het af. Resuspender vervolgens de spermapellet voorzichtig door handmatig te schudden. Voeg vers medium toe tot een totaal volume van 0,5 ml. Het sperma is klaar voor geassisteerde voortplantingsprocedures. (NB: Het totale volume van de niet-zwangere uterus is 15-56 ml.)

SPECIALE BEWERKINGSOVERWEGINGEN

Bewerking van zeer viskeuze spermamonsters:

Sommige monsters zijn van nature zeer viskeus, zelfs na vloeibaarmaking. Deze monsters hebben de consistentie van dikke stroop en behoren wellicht tot de moeilijkst te bewerken monsters.

- Nadat het medium aan een ejaculaat is toegevoegd, aspireert en verwijdert u het mengsel voorzichtig met een injectiespuit en 18gauge-naald. Hierdoor ontdoet u het mengsel van een gedeelte van het viskeuze slijm.
- Beperk de hoeveelheid medium-spermamengsel uit stap 1 tot 5 ml per centrifugeerbuisje voor de eerste centrifugeerstep.
- Als na voorberekking van het monster met de injectiespuit en naald (stap 1) het sperma niet op normale wijze 'pelletiseert' (het sperma ziet eruit als een 'troebele vezel' die aan de bodem van het centrifugeerbuisje vastzit), aspireer dan voorzichtig zoveel mogelijk supernatant met behulp van een injectiespuit met steriele naald, zonder de 'troebele spermavezel' te verstoren. Dit wordt bereikt door de afgeschuinde rand van de naald stevig tegen de wand van het centrifugeerbuisje te houden en vanaf de bovenkant van het buisje langzaam omlaag te aspireren. Als zoveel mogelijk supernatant is verwijderd, voegt u 2 of 3 ml vers medium toe. Herhaal het proces door het mengsel door de injectiespuit met 18gauge-naald op te zuigen. Centrifugeer het mengsel nogmaals. Het sperma zou na de tweede bewerking normaal moeten pelletiseren.
- Bij een volgende monstername dient de patiënt te worden verzocht een split-ejaculaat te produceren waardoor de viscositeit van het spermarijke gedeelte van het monster tot een minimum wordt beperkt.

Ophalen van oöcyten (niet voor spoelen van ovariumfollikels):

MHM kan worden aangevuld met heparine van beproefde farmaceutische kwaliteit (2,5-10 eenheden/ml) om stolling van de follikelaspriaten die bloed bevatten, te verminderen.

- Breng het met eiwit aangevulde medium op kamertemperatuur of 37 °C.
- De verzamelde follikelaspriaten moeten worden overgebracht naar een lege, steriele petrischaal.
- Identificeer de oöcyten en verwijder ze uit het follikelvocht en mogelijke bloedbesmetting met steriele pipetten die zijn voorgespoeld met aangevuld MHM.
- Spoel de oöcyten in verwarmd en aangevuld MHM.
- Plaats de oöcyten in een geëquilibrerd kweekmedium voor verdere verwerking.

Embryotransfer:

Overbrengen van embryo's uit het kweekmedium op dag 3 of dag 5:

- Breng op dag 3 of dag 5 na de beoordeling van de ontwikkeling van de embryo's het met eiwit aangevulde medium op kamertemperatuur of 37 °C.
- Maak voor elke set embryo's één steriele wasschaal klaar met daarin voorverwarmd, met eiwit aangevuld MHM.
- Plaats 1,0 ml van het voorverwarmde, met eiwit aangevulde MHM in een steriele eenvaks petrischaal.
- Plaats de wasschaal op een verwarmde objecttafel.
- Was de embryo's in de wasschaal door de embryo's 2 à 3 keer op te pakken en rond te draaien in een minimale hoeveelheid van het voorverwarmde, met eiwit aangevulde MHM in het vakje.
- Na het wassen kunnen de embryo's naar de patiënt worden overgebracht.

Voor aanvullende informatie over het gebruik van MHM dienen alle laboratoria hun eigen laboratoriumprocedures en -protocollen te raadplegen, die speciaal zijn ontwikkeld en geoptimaliseerd voor uw individueel medisch programma.

BEWAARINSTRUCTIES EN STABILITEIT

Bewaar de ongeopende flessen gekoeld bij 2 °C tot 8 °C.

Niet invriezen of blootstellen aan temperaturen hoger dan 39 °C.

Levensduur na openen van de fles:

Het product kan tot 5 weken na openen worden gebruikt, mits bewaard bij de aanbevolen temperatuur van 2 °C tot 8 °C.

VOORZORGSMAATREGELEN

EN WAARSCHUWINGEN

Dit hulpmiddel is bedoeld voor gebruik door personeel dat opgeleid is in geassisteerde voortplantingsprocedures. Tot deze procedures behoort het gebruik waarvoor dit hulpmiddel is bedoeld. Dit hulpmiddel is niet bedoeld voor gebruik bij spoelprocedures van ovariumfollikels. Dit medium is niet bedoeld voor gebruik bij het spoelen van oöcyten.

De instelling waarin dit hulpmiddel wordt gebruikt, is verantwoordelijk voor het behoud van de traceerbaarheid van het product en moet, waar van toepassing, voldoen aan de nationale voorschriften met betrekking tot traceerbaarheid.

Gebruik geen flessen met medium dat (vaste) deeltjes bevat of troebel is.

MHM moet goed met een dop worden afgesloten als het in een CO₂-incubator wordt geplaatst, om een pH-waarde van 7,0 of lager te voorkomen.

Gebruik aseptische technieken om besmettingsproblemen te voorkomen en voer extra medium dat na openen tekenen van besmetting vertoof af.

CONTRA-INDICATIE

Het product bevat gentamicinesulfaat. Passende voorzorgsmaatregelen dienen te worden genomen om er zeker van te zijn dat de patiënt niet gevoelig is voor dit antibioticum.

POLSKI

UWAGA OBOWIĄZUJĄCA W UE: Wyłącznie do użytku profesjonalnego.

PRZEZNACZENIE

Pożywka MHM z siarczanem gentamycyny jest przeznaczona do użytku w procedurach wspomaganego rozrodu, które obejmują manipulacje gametami lub zarodkami. Pożywka MHM jest w szczególności wskazana do stosowania jako żywność do odzyskiwania oocytów podczas procedur aspiracji pęcherzyków jajnikowych (nie do przepłukiwania pęcherzyków jajnikowych), przepłukiwania spermy przed procedurami zapłodnienia IVF i ICSI oraz do transportu zarodka do macicy podczas procedur przenoszenia zarodków.

OPIS WYROBU

Pożywka MHM to roztwór buforowany podwójnie (HEPES i MOPS), który zapewnia bezpieczne środowisko umożliwiające zachowanie żywotności gamet i zarodków podczas manipulacji w warunkach otoczenia. Jest to roztwór przeznaczony do wielu zastosowań — przygotowywania badania swim-up, przemywania spermy, pozyskiwania i przepłukiwania oocytów, IUI, ICSI i przenoszenia zarodków. Wymagane jest dodanie białka do produktu. Pożywka MHM zawiera 10 µg/ml antybiotyku w postaci siarczanu gentamycyny.

ZAPEWNIANIE JAKOŚCI

Produkt MHM to żywność do procedur filtrowana membranowo i przetwarzana aseptycznie zgodnie z procedurami wytwarzania, które zostały zweryfikowane w celu osiągnięcia bezpiecznego poziomu zapewnienia sterylności (SAL) wynoszącego 10⁻³.

Każda seria żywności MHM jest testowana pod kątem:

- Endotoksyn metodą Limulus Amebocyte Lysate (LAL) (≤0,25 EU/ml)
- Zgodności biologicznej w badaniu na zarodku mysim (rozwój ≥80% spośród jednokomórkowych zarodków w stadium blastocysty po 96 godz.)
- Sterylności, zgodnie z najnowszym badaniem sterylności wg Farmakopei Amerykańskiej (USP) <71>
- Przeżywalności ludzkiej spermy za pomocą testu HSSA (≥70% początkowej ruchliwości po 24 godzinach)

Wszystkie wyniki są notowane na swoistym dla danej serii Świadectwie analizy, które jest dostępne na żądanie.

SKŁAD:

Sole i jony	Wskaźnik pH
Chlorek sodu	Czerwień fenolowa
Chlorek potasu	Bufor
Siarczan magnezu	Wodorowęglan sodu
Fosforan potasu	HEPES
Chlorek wapnia	MOPS
Aminokwasy	Substrat energetyczny
Glicyna	Mleczan sodu
Tauryna	Glukoza
Antybiotyki	Pirogronian sodu
Siarczan gentamycyny	
	Woda
	Woda o jakości WFI

SYSTEM BUFORA

W żywności MHM wykorzystywany jest system buforowania składający się z połączenia buforu HEPES (kwas N-2-hydroksyetylo-piperazy-no-N'-2-etanosulfonowy), buforu MOPS (kwas 3-morfolinopropano-1-sulfonowy) i dwuwęglanu sodu. Ten system buforowania zapewnia utrzymanie pH w zakresie fizjologicznym (od 7,2 do 7,4) i nie wymaga użycia inkubatora z atmosferą CO₂.

DODAWANIE BIAŁKA

Pożywka MHM nie zawiera składników białkowych. Ilość dodatku białkowego może różnić się między laboratoriami i zależy od fazy przetwarzania/wzrostu gamet i zarodków. Należy zapoznać się ze stosowanymi protokołami laboratoryjnymi.

Poniżej podano zalecenia dla dodatku białka na podstawie odpowiedniego przeznaczenia żywności MHM:

Do przemywania spermy:

W przypadku stosowania albuminy surowicy ludzkiej (HSA) firmy FUJIFILM Irvine Scientific, Inc., roztworu o stężeniu 100 mg/ml, należy go używać w stężeniu końcowym 5 mg/ml. Aby uzyskać 10 ml żywności, dodać 0,5 ml roztworu HSA do 9,5 ml żywności. W przypadku stosowania produktu Serum Substitute Supplement (SSS) firmy FUJIFILM Irvine Scientific, Inc., roztworu białkowego o stężeniu 50 mg/ml, należy go używać w stężeniu końcowym 10% (steż. obj.). Aby uzyskać 10 ml żywności, dodać 1,0 ml produktu SSS do 9,0 ml żywności.

Do pozyskiwania oocytów:

W przypadku stosowania produktu HSA, roztworu o stężeniu 100 mg/ml, należy go używać w stężeniu końcowym 5 mg/ml. Aby uzyskać 10 ml żywności, dodać 0,5 ml roztworu HSA do 9,5 ml żywności. W przypadku stosowania produktu SSS, roztworu białkowego o stężeniu 50 mg/ml, należy go używać w stężeniu końcowym 10% (steż. obj.). Aby uzyskać 10 ml żywności, dodać 1,0 ml produktu SSS do 9,0 ml żywności.

Do przenoszenia zarodków:

W przypadku stosowania produktu HSA, roztworu o stężeniu 100 mg/ml, należy go używać w stężeniu końcowym 30 mg/ml. Aby uzyskać 10 ml żywności, dodać 3,0 ml roztworu HSA do 7,0 ml żywności. W przypadku stosowania produktu SSS, roztworu białkowego o stężeniu 50 mg/ml, należy go używać w stężeniu końcowym 50% (steż. obj.). Aby uzyskać 10 ml żywności, dodać 5,0 ml produktu SSS do 5,0 ml żywności.

INSTRUKCJA UŻYCIA

Poniżej znajdują się ogólne procedury związane z przeznaczeniem żywności MHM.

Przemywanie spermy:

Poniżej podana jest ogólna procedura dla wymywaniania spermy z otaczającego ją płynu nasiennego:

- Doprowadzić żywność do temperatury pokojowej lub 37°C.
- Pozostawić nasienie do upłynięcia w temperaturze pokojowej na 20–30 minut.
- Stosując techniki aseptyczne, przenieść upłynięte nasienie do sterylnej stożkowej probówki wirówkowej o pojemności 10 ml i dodać od 2 do 3 objętości żywności MHM o temperaturze pokojowej (np. na 2 ml próbki nasienia wymagane jest od 4 do 6 ml żywności). Jeśli objętość mieszaniny sperma-żywność będzie większa niż 5 ml, rozdzielić ją do dwóch sterylnych stożkowych probówek wirówkowych, zmniejszając objętość do 4–6 ml na probówkę. Spowoduje to zmaksymalizowanie odzysku spermy. Próbkę o wysokiej lepkości mogą wymagać dalszego przetwarzania w celu zagwarantowania całkowitego odzysku spermy. (Patrz część Uwagi dotyczące specjalnego przetwarzania).
- Wirować probówkę w temperaturze otoczenia przez 10 minut przy sile odśrodkowej 200–300 x g.
- Używając sterylnej pipety, usunąć i odrzucić nadsącz znad „osadu spermy”, aspirując go. Spermę należy następnie zawiesić, delikatnie postukując probówkę palcem wskazującym. (Uwaga: Na tym etapie nie należy używać wytrząsarki). Zawiesić spermę w od 1 do 2 ml świeżej żywności, zamknąć probówkę i delikatnie wymieszać przez odwracanie. Próbkę, które zostały podzielone na frakcje w pierwszym etapie wirowania, należy teraz połączyć w jednej probówce.
- Ponownie odwirować według instrukcji Etapu 4.
- Przy użyciu sterylnej pipety usunąć i wyrzucić nadsącz i ponownie zawiesić osad spermy poprzez delikatne ręczne wytrząsanie. Dodać świeżą żywność, aby uzyskać objętość końcową 0,5 ml. Plemniki są gotowe do procedur wspomaganego rozrodu. (Uwaga: całkowita objętość nieciążymacicy wynosi 15–56 ml).

UWAGI DOTYCZĄCE SPECJALNEGO PRZETWARZANIA

Przetwarzanie próbki nasienia o wysokiej lepkości:

Niektóre próbki charakteryzują się naturalnie wysoką lepkością, nawet po upłynięciu. Te próbki mają konsystencję gęstego syropu i mogą być najtrudniejsze do przetwarzania.

- Po dodaniu żywności do ejakulatu delikatnie zaaspirować i wypuścić mieszaninę przy użyciu strzykawki z igłą 18 G. Proces ten pozwoli na „odcięcie” pewnej ilości lekkiego śluzu.
- Ograniczyć ilość mieszaniny żywność-sperma z Etapu 1 do 5 ml na probówkę wirówkową w pierwszym etapie wirowania.
- Jeżeli po wstępnej obróbce próbki strzykawką i igłą (Etap 1) sperma nie „osadza się” w prawidłowy sposób (sperma będzie wyglądać jak „zmiędlone włókna” przyklejone do dna probówki wirówkowej), ostrożnie zaaspirować możliwie jak najwięcej nadsączu, nie naruszając „zmiędlonych włókien spermy”, używając sterylnej igły i strzykawki. Można tego dokonać poprzez przytrzymanie naciętej końcówki igły stabilnie przy ścianie probówki wirówkowej i powolne rozpoczęcie aspiracji z góry probówki ku dołowi. Po usunięciu jak największej ilości nadsączu dodać 2 lub 3 ml świeżej żywności. Powtórzyć proces aspiracji mieszaniny przy użyciu strzykawki z igłą 18 G. Ponownie zwirować mieszaninę. Po drugim przetwarzaniu sperma powinna osadzać się w prawidłowy sposób.
- Podczas kolejnego pobierania próbki należy poprosić pacjenta o dostarczenie rozdzielonego ejakulatu, co zminimalizuje lepkość części próbki będącej spermą.

Pozyskiwanie oocytów (nie do przepłukiwania pęcherzyków jajnikowych):

Do żywności MHM można dodać heparynę (2,5–10 jednostek/ml) klasy terapeutycznej w celu zmniejszenia krzepnięcia aspiratów pęcherzyków zawierających krew.

- Doprowadzić żywność z dodatkiem białka do temperatury pokojowej lub 37°C.
- Zbrane aspiraty pęcherzykowe należy przenieść do pustego sterylnego naczynia.
- Zidentyfikować oocyty i wyciągnąć je z płynu pęcherzykowego i możliwych zanieczyszczeń krwią za pomocą sterylnych pipet przepłukanych wstępnie żywnością MHM z dodatkiem białka.
- Przepłukać oocyty ogrzaną żywnością MHM z dodatkiem białka.
- Umieścić oocyty w zrównoważonej żywności hodowlanej w celu dalszego przetwarzania.

Przenoszenie zarodków:

Przeniesienie zarodków z żywności hodowlanej w dniu 3. lub 5.:

- W dniu 3. lub 5. po ocenie zarodków pod kątem rozwoju doprowadzić żywność z dodatkiem białka do temperatury pokojowej lub 37°C.
- Przygotować jedno sterylne naczynie do przepłukiwania zawierające wstępnie ogrzaną żywność MHM z dodatkiem białka dla każdego zestawu zarodków.
- Nanieść 1,0 ml wstępnie ogrzanej żywności MHM z dodatkiem białka do dolka sterylnego naczynia 1-dolkowego.
- Umieścić naczynie na podgrzewanej płytce.
- Przepłukać zarodki w naczyniu do przepłukiwania, podnosząc zarodki 2–3 razy i przemieszczając je dookoła w minimalnej objętości wstępnie ogrzanej żywności MHM z dodatkiem białka w dolku.
- Po przepłukaniu zarodki są gotowe do przeniesienia do ciała pacjentki.

Aby uzyskać szczegółowe informacje na temat stosowania żywności MHM, każde laboratorium powinno zapoznać się z obowiązującymi procedurami i protokołami laboratoryjnymi, które opracowano i zoptymalizowano specjalnie pod kątem poszczególnego programu medycznego.

INSTRUKCJE DOTYCZĄCE PRZECHOWYWANIA I STABILNOŚCI

Nieotwarte butelki przechowywać w chłodzarnie w temperaturze od 2 do 8°C.

Nie zamrażać i nie poddawać oddziaływaniu temperatury wyższej niż 39°C.

Trwałość po otwarciu butelki:

Produkt należy zużyć w ciągu pięciu (5) tygodni od otwarcia pod warunkiem przechowywania produktu w zalecanych warunkach, w temperaturze od 2 do 8°C.

ŚRODKI OSTROŻNOŚCI I OSTRZEŻENIA

Wyrób ten jest przeznaczony do użytku przez personel przeszkolony w procedurach wspomaganego rozrodu. Procedury te obejmują sposób wykorzystania wyrobu zgodnie z jego przeznaczeniem. Ten wyrób nie jest przeznaczony do procedury przepłukiwania pęcherzyków jajnikowych. Ta żywność nie jest przeznaczona do procedury przepłukiwania oocytów.

Ośrodek użytkownika, w którym stosowany jest ten wyrób, odpowiada za zachowanie identyfikowalności produktu i musi postępować zgodnie z krajowymi przepisami dotyczącymi identyfikowalności, jeśli mają one zastosowanie.

Nie używać butelki z żywnością, w której widoczne są cząstki stałe lub zmętnienie.

W przypadku używania inkubatora z atmosferą CO₂ żywność MHM powinna być szczelnie zamknięta, aby uniknąć obniżenia wartości pH do poziomu 7,0 lub niższego.

W celu uniknięcia problemów związanych z zanieczyszczeniem z produktem należy obchodzić się, stosując techniki aseptyczne i utylizować nadmiar żywności pozostającej w butelce lub fiole po zakończeniu procedury.

PRZECIWWSKAZANIA

Produkt zawiera siarczan gentamycyny. Należy zastosować odpowiednie środki ostrożności w celu upewnienia się, że pacjentka nie jest uczulona na tego rodzaju antybiotyki.

ROMÂNĂ

AVERTIZARE UE: Numai pentru uz profesional.

INDICAȚIE DE UTILIZARE

MHM cu sulfat de gentamicină este destinat utilizării în proceduri de reproducere asistată care implică manipularea gameților sau embrionilor. În mod specific, MHM este indicat pentru utilizare ca mediu pentru recoltarea ovocitelor în timpul unor proceduri de aspirare a foliculilor ovarieni (nu pentru clătirea foliculilor ovarieni), spălarea spermatozoizilor înainte de procedurile de fertilizare IVF și ICSI și pentru transportul embrionului în uter în timpul procedurilor de transfer embrionar.

DESCRIEREA DISPOZITIVULUI

MHM este o soluție dublu tamponată (HEPES și MOPS) care asigură un mediu sigur și securizat pentru menținerea viabilității gameților și embrionilor în timpul manipularilor în condiții ambientale. El este o soluție versatilă pentru pregătirea deplasării spermatozoizilor, spălarea spermatozoizilor, recoltarea și clătirea ovocitelor, IUI, ICSI și transferul embrionar. Produsul necesită supliment proteic. MHM conține 10 µg/ml antibiotic sulfat de gentamicină.

ASIGURAREA CALITĂȚII

MHM este un mediu de manipulare filtrat prin membrană și prelucrat aseptice conform unui proces de fabricație validat pentru a respecta un nivel de asigurare a sterilității (SAL) de 10⁻³.

Fiecare lot de MHM este testat pentru a se depista:

- Endotoxina prin metoda Limulus Amebocyte Lysate (LAL) (≤ 0,25 EU/mL)
- Biocompatibilitatea prin analiza embrionului de șoarece (o celulă la ≥ 80 % blastocist expandat la 96 ore).
- Sterilitatea prin testul de sterilitate actual prevăzut de Farmacopeea Americană <71>
- Testul de supraviețuire a spermatozoizilor umani (HSSA) (≥ 70 % mobilitate la 24 ore).

Toate rezultatele se înregistrează într-un Certificat de analiză separat pentru fiecare lot, care se eliberează la cerere.

COMPOZIȚIE:

Săruri și ioni	Soluție tampon
Clorură de sodiu	Bicarbonat de sodiu
Clorură de potasiu	HEPES
Sulfat de magneziu	MOPS
Fosfat de potasiu	
Clorură de calciu	Substrat energetic
	Lactat de sodiu
Aminoacizi	Glucoză
Glicină	Piruvat de sodiu
Taurină	
Antibiotic	Apă
Sulfat de gentamicină	Calitate WFI (water for injection) [apă sterilă pentru injecții]

Indicator pH

Roșu de fenol

SISTEM TAMPON

Folosește un sistem de tamponare compus dintr-o combinație de HEPES (acid N-2 hidroxiethylpiperazină-N'-2-etan sulfonic), MOPS(acid 3-morfolin-propan-1-sulfonic) și bicarbonat de sodiu . Acest sistem de tamponare asigură menținerea pH-ului pe tot intervalul fiziologic (de la 7,2 la 7,4) și nu necesită folosirea unui incubator cu CO₂.

SUPLIMENTARE CU PROTEINE

MHM nu conține componente proteice. Cantitatea de proteine suplimentate poate varia de la un laborator la altul și depinde de faza de procesare/creștere a gameților și a embrionilor. Consultați protocoalele individuale ale laboratorului dumneavoastră.

lață câteva recomandări pentru suplimentarea cu proteine în funcție de indicațiile de utilizare a MHM:

Pentru spălarea spermatozoizilor:

Când se utilizează albumină serică umană de la FUJIFILM Irvine Scientific Inc. (HSA) se folosește o soluție de 100 mg/ml la 5 mg/ml. Pentru 10 ml de mediu, adăugați 0,5 ml de soluție HSA la 9,5 ml de mediu. Când se utilizează Serum Substitute Supplement (SSS) de la FUJIFILM Irvine Scientific, Inc., se folosesc 50 mg/ml soluție de proteină la 10% (v/v). Pentru 10 ml de mediu, adăugați 1,0 ml SSS la 9,0 ml de mediu.

Pentru recuperarea ovocitelor:

Când se utilizează o soluție de HSA 100 mg/ml, utilizați 5 mg/ml. Pentru 10 ml de mediu, adăugați 0,5 ml de soluție HSA la 9,5 ml de mediu. Când se utilizează o soluție proteică de SSS 50 mg/ml, utilizați la 10% (v/v). Pentru 10 ml de mediu, adăugați 1,0 ml SSS la 9,0 ml de mediu.

Pentru transferul embrionar:

Când se utilizează o soluție de HSA 100 mg/ml, utilizați la 30 mg/ml. Pentru 10 ml de mediu, adăugați 3,0 ml de soluție HSA la 7,0 ml de mediu. Când se utilizează o soluție proteică de SSS 50 mg/ml, utilizați la 50% (v/v). Pentru 10 ml de mediu, adăugați 5,0 ml SSS la 5,0 ml de mediu.

INSTRUCȚIUNI DE UTILIZARE

În continuare sunt prezentate procedurile generale pentru utilizarea MHM.

Spălarea spermatozoizilor:

Procedura generală de spălare a spermatozoizilor de lichidul seminal care îi înconjoară include următoarele:

- Aduceți mediul la temperatura camerei sau la 37 °C.
- Lăsați sperma să se lichefieze la temperatura camerei timp de 20-30 minute.
- Utilizând tehnici aseptice, transferați sperma lichefiată într-o eprubetă conică sterilă de 10 ml pentru centrifugă și adăugați 2 până la 3 volume de MHM la temperatura camerei (de exemplu, pentru o probă de spermă de 2 ml este nevoie de 4-6 ml de mediu). În eventualitatea în care volumul mediului cu amestec de spermă este mai mare de 5 ml, împărțiți în două eprubete conice pentru centrifugă, minimizând volumul la 4-6 ml per eprubetă, iar recoltarea spermatozoizilor va fi maximizată. Este posibil ca pentru probele cu viscozitate ridicată să fie nevoie de prelucrare suplimentară pentru a se asigura recuperarea tuturor spermatozoizilor. (Consultați secțiunea Considerații speciale privind prelucrarea).
- Centrifugați eprubetele la temperatura ambiantă timp de 10 minute, utilizând o forță g egală cu 200-300 x g.
- Folosind o pipetă sterilă, îndepărtați prin aspirare supernatantul acumulat deasupra „peletei de spermatozoizi” și aruncați-l. După aceea, resuspendați spermatozoizii prin lovirea ușoară a exteriorului eprubetei cu degetul arătător. (Notă: Nu folosiți agitator vortex în această etapă).Resuspendați spermatozoizii în 1-2 ml de mediu proaspăt, puneți dopul și amestecați ușor prin răsturnare. Probele care au fost fracționate pentru prima etapă de centrifugare trebuie să fie acum amestecate într-o singură eprubetă.
- Recentrifugați ca în etapa 4.
- Folosind o pipetă sterilă, îndepărtați supernatantul și aruncați-l, apoi resuspendați ușor peleta de spermatozoizi prin agitare manuală. Adăugați mediu proaspăt până când obțineți un volum final de 0,5 ml. Spermatozoizii sunt gata pentru procedurile de reproducere asistată. (Notă: Volumul total al uterului negravid este de 15-56 ml).

CONSIDERAȚII SPECIALE PRIVIND PRELUCRAREA

Prelucrarea probelor de spermă cu viscozitate ridicată:

Unele probe sunt în sine foarte vâscoase chiar și după lichefiere. Aceste probe au consistența unui sirop gros și pot fi mai greu de prelucrat.

- După ce mediul este adăugat la produsul ejaculat, aspirați și descărcați cu grijă amestecul utilizând un ac de calibrul 18 și o seringă. Astfel se va îndepărta o parte din mucusul vâscos.

- Limitați cantitatea de amestec mediu-spermă de la etapa 1 la 5 ml/eprubetă de centrifugă pentru prima etapă de centrifugare.
- În cazul în care, după prelucrarea inițială a probei cu acul și seringă (etapa 1), spermatozoizii nu se „sedimentează” normal (spermatozoizii arată ca o „fibră tulbure” prinsă de fundul eprubetei pentru centrifugă), aspirați cu grijă cât mai mult posibil din supernatant fără a sparge „fibră tulbure de spermatozoizi”, folosind un ac steril și o seringă. Acest lucru se poate face ținând bizonul acului apăsat pe perețele eprubetei pentru centrifugă și începând ușor aspirarea de la partea de sus a eprubetei către partea de jos. După ce îndepărtați cât mai mult supernatant, adăugați 2 sau 3 ml de mediu proaspăt. Repetați procesul de tragere a amestecului prin seringă și prin acul de calibrul 18. Recentrifugați amestecul. Spermatozoizii ar trebui să se sedimenteze normal după a doua prelucrare.
- La recoltarea următoarelor probe, pacientul trebuie să fie rugat să ejaculeze fracționat în așa fel încât să se reducă la minimum viscozitatea probei în fracțiunea bogată în spermatozoizi a probei.

Recoltarea ovocitelor (nu pentru clătirea foliculilor ovarieni):

MHM poate fi suplimentat cu heparină pentru uz farmaceutic supusă testelor de calitate (2,5-10 unități/ml) pentru a se reduce coagularea aspiratelor foliculare care conțin sânge.

- Aduceți mediul suplimentat cu proteine la temperatura camerei sau la 37°C.
- Aspiratele foliculare colectate ar trebui transferate într-un vas steril gol.
- Identificați ovocitele și îndepărtați-le din fluidul folicular și posibilă contaminare cu sânge folosind pipete sterile și utilizând MHM pre-clătit și suplimentat.
- Clătiți ovocitele în MHM încălzit și suplimentat.
- Plasați ovocitele într-un mediu de cultură echilibrat pentru manipulare ulterioară.

Transferul embrionar:

Transferul embrionilor din mediul de cultură în ziua 3 sau în ziua 5:

- În ziua 3 sau în ziua 5, după evaluarea embrionilor în privința dezvoltării, aduceți mediul suplimentat la temperatura camerei sau la 37 °C.
- Pregătiți un vas steril pentru spălare care să conțină MHM preîncălzit suplimentat cu proteine pentru fiecare set de embrioni.
- Puneți 1,0 ml din MHM preîncălzit suplimentat cu proteine în godeta unui vas steril cu 1 godetă.
- Puneți vasul pe o placă încălzită.
- Spălați embrionii din vasul de spălare ridicând embrionii de câte 2-3 și ori deplasându-i în interiorul unui volum minim de MHM preîncălzit suplimentat cu proteine din interiorul godetei.
- După spălare, embrionii sunt gata de transfer în corpul pacientei.

Pentru detalii suplimentare privind folosirea MHM, fiecare laborator trebuie să își consulte propriile proceduri și protocoale, care au fost elaborate și optimizate special pentru programul dvs. medical individual.

INSTRUCȚIUNI PENTRU PĂSTRARE ȘI STABILITATE

Păstrați flacoanele nedeschise refrigerate la o temperatură între 2 °C și 8 °C.

Nu congelați și nu expuneți la temperaturi mai mari de 39 °C.

Valabilitate după deschiderea flaconului:

Produsul trebuie să fie utilizat în termen de cinci (5) săptămâni de la deschidere atunci când este depozitat în condițiile recomandate, între 2 °C și 8 °C.

PRECAUȚII ȘI AVERTISMENTE

Acest dispozitiv este conceput pentru a fi utilizat de către personal instruit în procedurile de reproducere asistată. Aceste proceduri includ întrebuintărea vizată pentru acest dispozitiv. Acest dispozitiv nu se va utiliza la procedura de clătire a foliculilor ovarieni. Acest mediu nu se va utiliza la proceduri de clătire a ovocitelor.

Instituția care utilizează acest dispozitiv este responsabilă pentru menținerea trasabilității produsului și trebuie să respecte normele naționale referitoare la trasabilitate, când este cazul

Nu utilizați niciun flacon cu mediu care prezintă urme de particule în suspensie sau este tulbure.

MHM trebuie să fie închis etanș dacă este încălzit într-un incubator cu CO₂, pentru a se evita nivelurile de pH egale cu/mai mici decât 7,0.

Pentru a evita probleme de contaminare, manevrați folosind tehnici aseptice și aruncați mediul care rămâne în flacon sau fiolă după ce se încheie procedura.

CONTRAINDICAȚII

Produsul conține sulfat de gentamicină. Trebuie luate măsurile de precauție adecvate pentru a vă asigura că pacientul nu este alergic la antibioticul acesta.

SVENSKA

EU – OBS! Endast för professionellt bruk

INDIKATIONER

MHM med gentamicinsulfat är avsett för användning vid procedurer för assisterad befruktning som involverar manipulering av gameter eller embryon. MHM är specifikt indicerat för användning som ett medium för utämnning av oocyter vid follikelaspiration (ej för spolning av folliklar i ovariet), för tvätt av spermier före IVF och fertilisering med ICSI samt för transport av embryot till uterus vid embryoåterföring.

PRODUKTBESKRIVNING

MHM-lösningen, som innehåller två buffertar (HEPES och MOPS), tillhandahåller en säker miljö för upprätthållande av viabiliteten hos gameter och embryon under manipulering i den rådande miljön. Det är en mångsidig lösning för "swim up"-preparering, tvätt av spermier, utämnning och sköljning av oocyter, IUI, ICSI och embryoåterföring. Protein måste tillsättas till produkten. MHM innehåller 10 µg/ml av antibiotikät gentamicinsulfat.

KVALITETSSÄKRING

MHM är ett hanteringsmedium som är membranfiltrerat och aseptiskt bearbetat enligt tillverkningsförfaranden som har validerats för att uppfylla en sterilitetsnivå (Sterility Assurance Level, SAL) på 10⁻³.

Varje lot MHM testas med avseende på: endotoxin, med användning av LAL-metod (Limulus Amebocyte Lysate)(≤ 0,25 EU/ml) biokompatibilitet, med användning av analys av musembryo (en cell, ≥ 80 % expanderad blastocyst efter 96 timmar) sterilitet, med användning av aktuellt USP-sterilitetstest <71> Analys av överlevnad hos humana spermier (HSSA, Human sperm survival assay) (≥ 70 % motilitet efter 24 timmar)

Alla resultat rapporteras på ett lotspecifikt analyscertifikat (Certificate of Analysis) som kan fås på begäran.

SAMMANSÄTTNING:

<u>Salter och ioner</u>	<u>pH-indikator</u>
Natriumklorid	Fenolrött
Kaliumklorid	
Magnesiumsulfat	<u>Buffert</u>
Kaliumfosfat	Natriumbikarbonat
Kalciumklorid	HEPES
	MOPS
<u>Aminosyror</u>	<u>Energisubstrat</u>
Glycin	Natriumlaktat
Taurin	Glukos
<u>Antibiotikum</u>	Natriumpruvat
Gentamicinsulfat	
	<u>Vatten</u>
	Vatten för injektion (WFI)

BUFFERTSYSTEM

I MHM används ett buffertsystem bestående av HEPES (N-2-hydroxietylpiperazin-N'-2-etansulfonsyra), MOPS (3 morfolin-propan-1-sulfonsyra) och natriumbikarbonat i kombination. Detta buffertsystem gör att pH bibehålls över det fysiologiska området (7,2–7,4), och en CO₂-inkubator behöver inte användas.

PROTEINTILLSATS

MHM innehåller inga proteinkomponenter. Mängden protein som tillsätts kan variera från laboratorium till laboratorium och är beroende av gameternas och embryonas bearbetnings-/tillväxtfas. Konsultera era individuella laboratorieprotokoll.

Följande rekommendationer för tillsats av protein är baserade på indikationerna för användning av MHM:

För tvätt av spermier:

Vid användning av FUJIFILM Irvine Scientific Inc. humant serumalbumin (HSA) i 100 mg/ml lösning, använd en koncentration på 5 mg/ml. För 10 ml medium, tillsätt 0,5 ml HSA-lösning till 9,5 ml av mediet. Vid användning av FUJIFILM Irvine Scientific, Inc. Serum Substitute

Supplement (SSS), en 50 mg/ml proteinlösning, använd en koncentration på 10 % (v/v). För 10 ml medium, tillsätt 1,0 ml SSS till 9,0 ml av mediet.

För utämnning av oocyter:

Vid användning av HSA, en 100 mg/ml lösning, använd en koncentration på 5 mg/ml. För 10 ml medium, tillsätt 0,5 ml HSA-lösning till 9,5 ml av mediet. Vid användning av SSS, en 50 mg/ml proteinlösning, använd 10 % (v/v). För 10 ml medium, tillsätt 1,0 ml SSS till 9,0 ml av mediet.

För embryoåterföring:

Vid användning av HSA, en 100 mg/ml lösning, använd en koncentration på 30 mg/ml. För 10 ml medium, tillsätt 3,0 ml HSA-lösning till 7,0 ml av mediet. Vid användning av SSS, en 50 mg/ml proteinlösning, använd 50 % (v/v). För 10 ml medium, tillsätt 5,0 ml SSS till 5,0 ml av mediet.

BRUKSANVISNING

Följande är allmänna procedurer för indikationerna för användning av MHM.

Tvätt av spermier:

Den generella proceduren för borttvättning av omgivande sädesvätska från spermierna innefattar:

- Låt mediet uppnå rumstemperatur eller 37 °C.
- Låt sädesvätskan anta flytande form vid rumstemperatur under 20 till 30 minuter.
- Överför den flytande sädesvätskan med aseptisk teknik till ett sterilt, konformat centrifugrör 10 ml, och tillsätt 2–3 gånger provvolymen rumstempererat MHM (till ett 2 ml spermprov krävs t.ex. 4–6 ml medium). Dela upp blandningen av spermier och medium på två sterila konformade centrifugrör om volymen överstiger 5 ml. Genom att minimera volymen per rör till 4–6 ml maximeras utbytet av spermier. Prover med hög viskositet kan kräva ytterligare bearbetning för säkerställande av ett totalt utbyte av spermier. (Se Särskilda överväganden avseende bearbetning).
- Centrifugera rören vid rumstemperatur under 10 minuter med en g-kraft på 200–300 g.
- Använd en steril pipett till att avlägsna och kassera supernatanten ovanför "spermiepelleten" med hjälp av aspiration. Spermierna ska sedan resuspenderas genom att man försiktigt knäpper med pekfingeret på rörets utsida. (Anm: Använd inte vortexblandare för detta steg). Resuspendera spermierna i 1–2 ml färskt medium, förslut igen och blanda försiktigt genom vändning. Prover som fraktionerats för det första centrifugeringssteget ska nu kombineras i ett rör.
- Centrifugera på nytt som i steg 4.
- Använd en steril pipett till att avlägsna och kassera supernatanten och resuspendera spermiepelleten försiktigt genom att skaka för hand. Tillsätt färskt medium till en slutlig volym på 0,5 ml. Spermierna är nu klara att användas för assisterad befruktning. (Anm: Volymen på en icke gravid uterus kan variera mellan 15 och 56 ml.

SÄRSKILDA ÖVERVÄGANDEN AVSEENDE BEARBETNING

Bearbetning av kraftigt visköst spermprov:

Vissa prover är naturligt kraftigt viskösa även efter att de har antagit flytande form. Dessa prover har samma konsistens som tjock sirap och kan vara bland de svåraste att bearbeta.

- Efter att mediet har tillsatts till ett ejakulat, aspirera och spruta ut blandningen varsamt med hjälp av en 18 G-nål och en injektionsspruta. Detta "skrapar av" en del av det viskösa slemmet.
- Mängden medium-spermieblandning från steg 1 ska begränsas till 5 ml per centrifugrör för det första centrifugeringssteget.
- Om spermierna inte bildar en pellet på normalt sätt (ser ut som en "grumlig sträng" som sitter fast i botten på centrifugröret) efter förbearbetningen av provet med nålen och sprutan (steg 1), ska så mycket av supernatanten som möjligt försiktigt aspireras av utan att den "grumliga spermisträngen" störs, med hjälp av en steril nål och en injektionsspruta. Detta kan åstadkommas genom att man håller nålens avfasade

kant stadigt mot centrifugrörets vägg och sakta börjar aspirera ovanifrån och nedåt i röret. Tillsätt 2 eller 3 ml färskt medium efter att så mycket av supernatanten som möjligt har avlägsnats. Upprepa proceduren med att dra blandningen genom 18 G-nålen och injektionssprutan. Centrifugera blandningen igen. Spermierna bör bilda en pellet på normalt vis efter den andra bearbetningen.

- Vid efterföljande provtagning bör man be patienten att producera ett uppdelat ejakulat, vilket minimerar viskositeten i den spermierika delen av provet.

Utämnning av oocyter (ej för spolning av folliklar i ovariet):

MHM kan kompletteras med kvalitetstestat heparin av farmaceutisk kvalitet (2,5–10 enheter/ml) för att minska koagulering av blodhaltigt follikelaspirat.

- Låt mediet med proteintillsats uppnå rumstemperatur eller 37 °C.
- Det uppsamlade follikelaspiratet ska överföras till en tom, steril skål.
- Identifiera oocyterna och hämta upp dem från follikelvätskan och möjlig kontaminering av blod med hjälp av sterila pipetter försköljda med supplementerat MHM.
- Skölj oocyterna i värm och supplementerat MHM.
- Placera oocyterna i ett ekvibrerat odlingsmedium för fortsatt hantering.

Embryoåterföring:

Återföring av embryon från odlingsmediet på dag 3 eller dag 5:

- På dag 3 eller dag 5, efter bedömning av embryonas utveckling, låt medium med proteintillsats uppnå rumstemperatur eller 37 °C.
- Gör iordning en steril tvättskål med förvämt MHM med proteintillsats för varje uppsättning embryon.
- Häll 1,0 ml av det förvämda MHM med proteintillsats i brunnen på en steril skål med en brunn.
- Placera tvättskålen på ett uppvärmt korsbord.
- Tvätta embryona i tvättskålen genom att plocka upp embryona 2–3 gånger och föra runt dem i en minimal volym av det förvämda MHM med proteintillsats i brunnen.
- Efter tvätt är embryona klara att återföras till patienten.

För ytterligare information om användning av MHM bör varje laboratorium konsultera sina egna laboratorieförfaranden och -protokoll som utvecklats och optimerats särskilt för det egna medicinska programmet.

FÖRVARINGSANVISNINGAR OCH HÅLLBARHET

Öppnade flaskor ska förvaras i kylskåp vid 2–8 °C.

Får ej frysas eller exponeras för temperaturer över 39 °C.

Hållbarhet efter att flaskan har öppnats: Produkten ska användas inom fem (5) veckor från öppningsdatum vid förvaring i rekommenderad temperatur, 2–8 °C.

FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER OCH VARNINGAR

Denna produkt är avsedd att användas av personal med utbildning i procedurer för assisterad befruktning. Dessa procedurer innefattar den avsedda tillämpning som denna produkt är avsedd för. Denna produkt är inte avsedd för spolning av folliklar i ovariet. Detta medium är inte avsett för spolning av oocyter.

Den institution där denna produkt används ansvarar för att upprätthålla produktens spårbarhet och måste följa nationella förordningar avseende spårbarhet där så är tillämpligt.

Använd inga flaskor med medium som innehåller partiklar eller är grumligt.

MHM ska vara ordentligt förslutet vid användning i en CO₂-inkubator så att pH-värden på 7,0 eller lägre undviks.

För att undvika problem med kontamination ska hantering ske med aseptisk teknik och eventuellt oanvänt medium som finns kvar i flaskan eller ampullen ska kasseras efter avslutad procedur.

KONTRAINDIKATIONER

Produkten innehåller gentamicinsulfat. Adekvata försiktighetsåtgärder ska vidtas för att säkerställa att patienten inte är allergisk mot detta antibiotikum.

EESTI KEEL

Eli HOIATUS: üksnes kutselaseks kasutamiseks.

NÄIDUSTUS KASUTAMISEKS

MHM gentamitsiinsulfaadiga on mõeldud kasutamiseks abistatud viljastamisprotseduurides, mis hõlmavad inimese sugurakkude või embrüote manipulatsiooni. Eeskätt on MHM näidustatud ootsüütide kogumise söötmena munasarja folliikulite aspireerimise protseduurides (mitte munasarja folliikulite loputamiseks), sperma uhtmiseks enne IVF- või ICSI-viljastamisprotseduure ning embrüo transportimiseks emakasse embrüo üleviimisprotseduurides.

SEADME KIRJELDUS

MHM on kaks korda puhverdatud lahus (HEPES ja MOPS), mis loob ohutu ja turvalise keskkonna, säilitamaks gameeteid ja embrüote elujõulisust keskkonnatingimustel manipuleerimisel. See on mitmeotstarbeline lahus ujuvuse ettevalmistamiseks, sperma uhtmiseks, ootsüütide kogumiseks ja loputamiseks, IUI-ks, ICSI-ks ja embrüote teiselamiseks. Toode vajab valgulisandit. MHM sisaldab 10 µg/ml antibiootikumi gentamitsiinsulfaat.

KVALITEEDI TAGAMINE

MHM on membraanfiltritud käitlussööde ja aseptiliselt töödeldud valideeritud tootmismeetodite kohaselt, mis garanteerivad steriilsuse tagamise tasandi (SAL) 10⁻³.

Igat MHM-i partiid on testitud järgmise suhtes:

- endotoksiini määramine liimuluse amöbotsüüdi lüsaadi (LAL) meetodil ($\leq 0,25$ EÜ/ml);
- Bioühilduvus hiire embrüo analüüsiga (üherakuline, $\geq 80\%$ suurendatud blastostüst 96 h);
- steriilsus kehtiva USP steriilsustestiga $<71\%$;
- inimese sperma elumuse test (HSSA) ($\geq 70\%$ liikuvus 24 h).

Kõik tulemused on avaldatud konkreetselt partiid puudutavas analüüsiserifikaadis, mida võite soovi korral taotleda.

KOOSTIS

<u>Soolad ja ioonid</u>	<u>pH-indikaator</u>
Naatriumkloriid	Fenoolpunane
Kaaliumkloriid	
Magneesiumsulfaat	<u>Puhver</u>
Kaaliumfosfaat	Naatriumvesinikkarbonaat
Kaltsiumkloriid	HEPES
	MOPS
<u>Aminohapped</u>	<u>Energia substraat</u>
Glütsiin	Naatriumlaktaat
Tauriin	Glükoos
<u>Antibiootikum</u>	Naatriumpüruvaat
Gentamitsiinsulfaat	
	<u>Vesi</u>
	WFI kvaliteet

PUHVERSÜSTEEM

MHM kasutab HEPES-ist (N-2-hüdroksüetüülpiiperasiin-N'-2-etaansulfoonhape), MOPS-ist (3-morfolinopropan-1-sulfoonhape) ja naatriumvesinikkarbonaadist koosnevat puhversüsteemi. Puhversüsteem lubab pH säilitamist füsioloogilise pH piires (7,2–7,4) ega nõua CO₂ inkubaatori kasutamist.

VALGU LISAMINE

MHM ei sisalda valgulisi koostisosi. Valgulisandite hulk võib laborites erineda ning see olenebgameetide ja embrüote töötlemise/kasvatamise faasist. Juhiduge oma labori protokollidest.

Alljärgnevalt on esitatud valgulisandiga seotud soovitud, mis põhinevad MHM-i toote kasutusjuhendil.

Sperma pesemiseks:

Kui kasutate ettevõtte FUJIFILM Irvine Scientific, Inc. inimese seerumi albumiini (HSA) 100 mg/ml lahust, kasutage seda 5 mg/ml. 10 ml söötmee saamiseks lisage 0,5 ml HSA lahust 9,5 ml söötmele. Kui kasutate ettevõtte FUJIFILM Irvine Scientific, Inc. toodet Serum Substitute Supplement (SSS), 50 mg/ml valgulahust, kasutage seda 10% (mahuprotsent). 10 ml söötmee saamiseks lisage 1,0 ml SSS-i 9,0 ml söötmesse.

Ootsüütide kogumiseks

Kui kasutate ettevõtte HSA 100 mg/ml lahust, kasutage seda 5 mg/ml. 10 ml söötmee saamiseks lisage 0,5 ml HSA lahust 9,5 ml söötmele. Kui kasutate SSS-i 50 mg/ml valgulahust, kasutage seda 10% (mahuprotsent). 10 ml söötmee saamiseks lisage 1,0 ml SSS-i 9,0 ml söötmesse.

Embrüote teiselamiseks

Kui kasutate ettevõtte HSA 100 mg/ml lahust, kasutage seda 30 mg/ml. 10 ml söötmee saamiseks lisage 3,0 ml HSA lahust 7,0 ml söötmele. Kui kasutate SSS-i 50 mg/ml valgulahust, kasutage seda 50% (mahuprotsent). 10 ml söötmee saamiseks lisage 5,0 ml SSS-i 5,0 ml söötmesse.

KASUTUSJUHE

Järgmised on MHM-i kasutamise üldised protseduurid.

Sperma uhtmiseks

Üldprotseduur sperma väljapesemiseks seda ümbritsevast seemnevedelikust hõlmab järgmist.

- Tooge sööde toatemperatuurile või 37 °C juurde.
- Laske seemnevedelik vedelduda toatemperatuuril 20 kuni 30 minutit.
- Viige vedeldatud seemnevedelik aseptilist tehnikat kasutades steriilsesse 10 ml koonilisse tsentrifuugikatsutisse ja lisage 2- kuni 3-kordses mahus toatemperatuuril MHM-C-d (nt vajab 2 ml seemnevedeliku proov 4 kuni 6 ml vastavat söödett). Kui spermasöötmee segu maht on üle 5 ml, siis jätage kahte steriilsesse koonilisse tsentrifuugikatsutisse, viies mahu katsuti kohta minimumi ehk 4–6 ml-ni, et maksimeerida kogutava sperma mahtu. Väga viskoosete proovide puhul võib vajalik olla edasine töötlemine, et tagada sperma kogumine täismahus. (Vt lõik „Kaalutlused spetsiaalsel töötlemisel”).
- Tsentrifugeerige katsutid ümbritseva õhu temperatuuril 200–300 × g juures 10 minutit.
- Kasutades steriilset pipetti, aspireerige spermapelletit supernatant ja visake see ära. Seejärel tuleb sperma resuspendeerida, selleks koputage katsutit nimetissõrmega õrnalt väljastpoolt. (Märkus. Ärge kasutage selles sammus Vortex-segurit.) Resuspendeerige sperma 1 kuni 2 ml värskes söötmes, korgistage ja segage õrnalt ümberpööramise teel. Esimeseks tsentrifuugimise etapiks fraktsioneeritud proovid tuleb nüüd rekombineerida ühte katsutisse.
- Tsentrifugeerige uuesti nagu 4. sammus.
- Steriilset pipetti kasutades eemaldage supernatant ja visake see ära ning resuspendeerige spermapellet õrnalt käitsi segades. Lisage värsket söödett, kuni lõplik kogus on 0,5 ml. Sperma on valmis abistatud viljastamisprotseduurides kasutamiseks. (Märkus. Mittegraviidse emaka kogumaht on 15–56 ml).

KAALUTLUSED SPETSIAALSEL TÖÖTLEMISEL

Väga viskoosse proovi töötlemine.

Mõned proovid on loomupäraselt väga viskoossed isegi pärast vedeldamist. Need proovid on tiheda siirupise konsistentsiga ja võivad seetõttu olla ühed kõige raskemini töödeldavad.

- Pärast söötmee lisamist ejakulaadile aspireerige ja suruge segu õrnalt välja, kasutades selleks 18 G süstlanõela ja süstalt. See koorib maha osa viskooset lima.
- Piirake esimeses tsentrifuugimise etapis 1. sammus kirjeldatud söötmee-sperma segu hulka igas tsentrifuugikatsutis 5 ml-le.
- Kui proovi eelneval töötlemisel nõela ja süstlaga (1. samm) sperma normaalselt pelletit ei moodusta (sperma peab ilmneva tsentrifuugikatsuti põhja kinnitunud hüguse niidina), aspireerige steriilse nõela ja süstlaga ettevaatlikult nii palju supernatanti kui võimalik, samas hädust „spermaniiiti” mitte lõhestades. Seda on võimalik teha, kui hoida nõela kaldservaga otsa kindlalt tsentrifuugikatsuti vastas ja aspireerida aeglaselt katsuti ülaosast allapoole liikudes. Kui on eemaldatud võimalikult palju supernatanti, lisage 2 või 3 ml värsket söödett. Korra seda protseduuri,

tõmmates segu läbi 18 G süstlanõela ja süstla. Tsentrifugeerige segu uuesti. Sperma peaks pärast teistkordset töötlemist normaalselt pelletit moodustama.

- Järjekordsete proovide võtmisel tuleb patsiendilt paluda, et ta annaks mitmeosalise ejakulaadi, kuna see minimeerib proovi spermarohkeima osa viskoossust.

Ootsüütide kogumine (mitte munasarja folliikulite loputamiseks)

MHM-le võib lisada kvaliteetset testitud farmatseutilise taseme hepariini (2,5–10 ühikut/ml), et vähendada verd sisaldava folliikulaarse aspiraadid hüübimist.

- Tooge sööde toatemperatuurile või 37 °C juurde.
- Kogutud folliikulaarspiraadid tuleb üle viia tühja steriilsesse tassi.
- Tuvestage ootsüütide ja eemaldage need folliikulaarsest vedelikust ja võimalikust veresaastest, kasutades steriilset pipetti, mida on enne loputatud lisanditega MHM-iga.
- Loputage ootsüüte soojendatud ja lisanditega MHM-is.
- Viige ootsüütid tasakaalustatud kultuurisöötmesse edasist käitlemist ootama.

Embrüote teiseldamine

Embrüote üleviimine kultuurisöötmes 3. või 5. päeval:

3. või 5. päeval pärast embrüote arengu hindamist tooge valgulisandiga sööde toatemperatuurile või 37 °C juurde.
- Valmistage iga embrüokomplekti jaoks ette steriilne lopustass, mis sisaldab eelsoojendatud valgulisandiga MHM-i.
- Asetage 1,0 ml eelsoojendatud valgulisandiga MHM-i steriilses 1-kambriilise tassi kambriisse.
- Asetage lopustass soojendusse.
- Loputage embrüoid lopustassis, tõstes neid 2–3 korda üles ja liigutades neid minimaalses koguses eelsoojendatud valgulisandiga MHM-is kambri sees ringi.
- Pärast loputamist on embrüod valmis patsienti siirdamiseks.

Lisateabe saamiseks MHM-i kasutamise kohta peavad laborid tutvuma oma protseduuride ja protokollidega, mis on nende individuaalse meditsiinilise programmi jaoks spetsiaalselt välja töötatud ja optimeeritud.

SÄILITUSJUHESED JA STABIILSUS

Säilitage avamata pudeleid jahutatul temperatuuril 2–8 °C.

Ärge külmutage ega hoidke temperatuuril üle 39 °C.

Ajaline kehtivus pärast pudeli avamist:

Toode tuleb ära kasutada kaheksa (5) nädala jooksul pärast avamist, kui seda säilitatakse juhiste kohaselt 2–8 °C.

ETTEVAATUSABINÕUD JA HOIATUSED

See seade on mõeldud kasutamiseks personalile, kes on saanud väljaõppe abistatud viljastamisprotseduuride alal. Need protseduurid hõlmavad seadme kasutusotstarbe täitmiseks mõeldud tegevust. See seade ei ole mõeldud munasarja folliikulite loputamise protseduuriks. See sööde ei ole mõeldud kasutamiseks ootsüütide loputamise protseduurides.

Seda seadet kasutatav asutus vastutab toote jälgitavuse tagamise eest ning peab tegutsema riikliku jälgitavuse regulatsiooni kohaselt, kui see kehtib.

Ärge kasutage ühtegi sellist söötmepudelit, kus on osakesi või hädusust.

pH-taseme 7,0 või alla selle vältimiseks tuleb MHM-i CO₂ inkubaatoris kasutamisel hoida tihedalt suletuna.

Saastumise vältimiseks kasutage aseptilist tehnikat kasutades ja pärast protseduuri lõpetamist visake pudelisse või viaali jäänud sööde ära.

VASTUNÄIDUSTUS

Toode sisaldab gentamitsiinsulfaati. Tuleb rakendada sobivaid ettevaatusabinõusid, et patsient ei oleks selle antibiootikumi suhtes ülitundlik.

MAGYAR

EU FIGYELMEZTETÉS: Kizárólag professzionális felhasználásra.

FELHASZNÁLÁSI JAVALLATOK

A gentamicin-szulfáttal kiegészített MHM médium gaméták és embriók manipulálását magába foglaló asszisztált reprodukciós eljárásokban való alkalmazásra szolgál. Az MHM kifejezetten petesejtkenyerő médiumként történő alkalmazásra szolgál a petefészektüszők aspirációs eljárásai során (nem a petefészektüszők öblítésére), továbbá a sperma mosására az IVF és ICSI megtermékenyítési eljárások előtt, valamint az embriók átvitelére a méhbe az embriótranszfer eljárások során.

TERMÉKISMERTETÉS

Az MHM egy kétszeresen puffertelt oldat (HEPES és MOPS), amely védett és biztonságos környezetet kínál a gaméták és embriók életképességének megőrzéséhez a környezeti körülmények között végzett manipulációk során. Többcélú oldat a felúztatás előkészítésre, spermiummosásra, petesejtkenyerésre és -öblítésre, IUI-re, ICSI-re és embriótranszferre. A termék fehérjekiegészítést igényel. Az MHM 10 µg/ml gentamicin-szulfát antibiotikumot tartalmaz.

MINŐSÉGBIZTOSÍTÁS

Az MHM egy kezelőmédium, amelyet membránszűrővel és aszeptikusan készítenek olyan gyártási eljárásokkal, amelyek 10⁻³ sterilításbiztonsági szintre (SAL) validáltak.

Az MHM minden gyártási tételét tesztelik az alábbiakra: endotoxinra limulus amöbocita liszátum (LAL) módszerrel (≤ 0,25 EU/ml); biokompatibilitásra egérembrió assay-vel (egy sejttes, ≥ 80% kiterjesztett blasztociszta, 96 óra); sterilítésre a jelenlegi Amerikai Gyógyszerkönyv <71> sterilítási vizsgálatával; emberi sperma túlélési assay-re (HSSA, ≥ 70% motilitás, 24 óra).

Minden eredményről jelentés készül egy tételspecifikus analitikai bizonylaton, amely kérésre hozzáférhető.

ÖSSZETÉTEL:

Sók és ionok	pH-indikátor
Nátrium-klorid	Fenolvörös
Kálium-klorid	
Magnézium-szulfát	Puffer
Kálium-foszfat	Nátrium-bikarbonát
Kalcium-klorid	HEPES
	MOPS
Aminosavak	Energiaszubsztrát
Glicin	Nátrium-laktát
Taurin	Glükóz
Antibiotikum	Nátrium-piruvat
Gentamicin-szulfát	
	Víz
	Injekcióhoz való minőségű víz

PUFFERRENDSZER

Az MHM olyan pufferrendszert használ, amely HEPES (N-2-hidroxietil-piperazin-N'-2-etanszulfonsav), MOPS (3 morfolinopropán-1-szulfonsav) és nátrium-bikarbonát kombinációjából áll. Ez a pufferrendszer biztosítja a fiziológias tartomány feletti (7,2–7,4) pH-t, és nem igényli CO₂-inkubátor használatát.

FEHÉRJEKIEGÉSZÍTÉS

Az MHM nem tartalmaz fehérjekomponenseket. A fehérjekiegészítés mennyisége eltérő lehet a laboratóriumok között, és függ a gaméták és embriók feldolgozási/növekedési fázisától. Nézze meg a saját egyéni laboratóriumi protokolljában.

A fehérjekiegészítésre vonatkozó alábbi javaslatok az MHM felhasználási utasításai alapján készültek:

Spermiummosáshoz:

100 mg/ml-es FUJIFILM Irvine Scientific Inc. Human Serum Albumin (HSA) oldat használata esetén 5 mg/ml-es koncentrációt használjon. 10 ml médium elkészítéséhez adjon 0,5 ml HSA-oldatot 9,5 ml médiumhoz. A FUJIFILM Irvine Scientific, Inc. Serum Substitute Supplement (SSS) 50 mg/ml-es fehérjeoldatának használata esetén 10% (v/v) koncentrációt használjon. 10 ml médium elkészítéséhez adjon 1,0 ml SSS-oldatot 9,0 ml médiumhoz.

Petesejtkenyeréshez:

100 mg/ml-es HSA-oldat használata esetén 5 mg/ml-es koncentrációt használjon. 10 ml médium elkészítéséhez adjon 0,5 ml HSA-oldatot 9,5 ml médiumhoz. Az SSS 50 mg/ml-es fehérjeoldatának használata esetén 10% (v/v) koncentrációt használjon. 10 ml médium elkészítéséhez adjon 1,0 ml SSS-oldatot 9,0 ml médiumhoz.

Embriótranszferhez:

100 mg/ml-es HSA-oldat használata esetén 30 mg/ml-es koncentrációt használjon. 10 ml médium elkészítéséhez adjon 3,0 ml HSA-oldatot 7,0 ml médiumhoz. Az SSS 50 mg/ml-es fehérjeoldatának használata esetén 50% (v/v) koncentrációt használjon. 10 ml médium elkészítéséhez adjon 5,0 ml SSS-oldatot 5,0 ml médiumhoz.

HASZNÁLATI UTASÍTÁS

A következő általános eljárások érvényesek az MHM felhasználására.

Spermiummosáshoz:

Az általános módszer a himvarsejtek ondófolydáékttól történő megtisztítására a következőket foglalja magában:

- Melegítse a tápoldatot szobahőmérsékletre vagy 37 °C-ra.
- Hagya az ondót elfolyódnai szobahőmérsékleten 20–30 percig.
- Aszeptikus technikát alkalmazva tegye át az elfolyósodott ondót egy steril, 10 ml-es kúpos centrifugacsőbe, és adjon hozzá 2–3 térfogatnyi szobahőmérsékletű MHM-et (például 2 ml ondómintához 4–6 ml tápoldat szükséges). Amennyiben a spermium-médium keverék térfogata 5 ml-nél nagyobb, ossza szét két steril kúpos centrifugacsőbe, a csővenkénti térfogatot 4–6 ml-re minimalizálva, hogy a spermiumok visszanyerése a maximális legyen. Magas viszkozitású minták esetében szükség lehet további eljárásokra az összes spermium visszanyerésének biztosítására. (Lásd a Speciális eljárási szempontok részt.)
- Centrifugálja a csöveket környezeti hőmérsékleten 10 percig 200–300 × g erővel.
- Steril pipettával szívja le, majd dobja ki a felülúszót a „spermiumpellet”-ről. Ezután újra szuszpendálja fel a spermiumokat úgy, hogy a csövet kívülről, óvatosan pöccintgeti mutatóujjával. (Megjegyzés: Ne használjon vortex keverőt ehhez a lépéshez.) Szuszpendálja fel újra a spermiumokat 1–2 ml friss médiumban, fedje le újra, és óvatosan keverje össze a cső fel-le fordításával. Az első centrifugálási lépésnél szétosztott mintákat most újra össze kell rakni egy csőbe.
- Centrifugálja újra a 4. lépésnél leirtak szerint.
- Steril pipettával távolítsa el és dobja el a felülúszót, majd szuszpendálja fel újra a spermiumpelletet óvatosan, kézzel rázogatva. Egészítse ki friss médiummal 0,5 ml végtérfogatra. A spermiumok készen állnak az asszisztált reprodukciós eljárásokra. (Megjegyzés: A nem terhes anyaméh teljes térfogata 15–56 ml.)

SPECIÁLIS ELJÁRÁSI SZEMPONTOK

Magas viszkozitású ondóminták feldolgozása:

Bizonyos minták természetüktől fogva nagyon viszkozusak, még elfolyósodás után is. Ezek a minták sűrű szirup állagúak, és a legnehezebben feldolgozhatók közé tartoznak.

- Miután hozzáadta a médiumot az ejakulátumhoz, szívja fel és nyomja ki óvatosan a keveréket egy fecskendő és egy 18 G-s tű segítségével. Ez valamennyit „levág” a viszkozus nyálkából.

- Korlátozza az 1. lépés médium-spermium keverékének mennyiségét centrifugacsővenként 5 ml-re az első centrifugálási lépésnél.
- Amennyiben a tüvel és a fecskendővel (1. lépés) előkészített mintában a spermium nem képez normál módon pelletet (a spermiumok „zavaros rostként” a centrifugacső aljához tapadnak), egy steril tű és fecskendő segítségével óvatosan szívjon le annyit a felülúszóból, amennyit csak lehet anélkül, hogy megbontaná a „zavaros spermiumrostot”. Ezt legkönnyebben úgy teheti meg, hogy a tű ferde végét szorosan a centrifugacső falának támasztja, és lassan, a cső tetejétől lefelé haladva szívja le. Miután a lehető legtöbb felülúszót eltávolította, adjon hozzá 2–3 ml friss médiumot. Ismét szívja fel és nyomja ki a keveréket egy fecskendő és egy 18 G-s tű segítségével. Centrifugálja újra a keveréket. A második feldolgozás után a spermiumoknak normális pelletet kell képezniük.
- A következő mintagyűjtéseknél meg kell kérni a beteget, hogy osztott ejakulátumot adjon, amely minimalizálja a viszkózitást a minta spermiumban gazdag részében.

Petesejtkenyerés (nem a petefészektüszők öblítésére):

Az MHM kiegészíthető tesztelt, gyógyászati minőségű heparinnal (2,5–10 egység/ml) a vértartalmú tüszőaspirátumok véralvadásának csökkentéséhez.

- Melegítse a fehérjével kiegészített médiumot szobahőmérsékletre vagy 37 °C-ra.
- A begyűjtött tüszőaspirátumokat át kell helyezni egy üres steril csészébe.
- Lokalizálja a petesejteket, majd távolítsa el őket a follikuláris folyadékából és az esetleges vérszennyeződésből sterili pipetták és előmelegített és kiegészített MHM segítségével.
- Öblítse le a petesejteket felmelegített és kiegészített MHM-mel.
- Helyezze a petesejteket ekvilibránt tenyésztőmédiumra a további kezeléshez.

Embrióátvitel:

Embriók átvitele tenyésztőmédiumból a 3. vagy 5. napon:

- A 3 vagy 5. napon, az embriók fejlődésének megvizsgálása után, a fehérjével kiegészített médiumot melegítse szobahőmérsékletre vagy 37 °C-ra.
- Készítsen elő minden egyes embrióhalmaz számára egy sterili csészét előmelegített és fehérjével kiegészített MHM-mel.
- Helyezzen 1,0 ml előmelegített és fehérjével kiegészített MHM-et egy sterili, egylyukú csésze lyukába.
- Helyezze a csészét fűtött alapra.
- Mossa meg az embriókat a csészében az embriók 2–3 alkalommal való felvételével és az előmelegített és fehérjével kiegészített MHM minimális mennyiségében való megmozgatásával a lyukon belül.
- A mosás után az embriók készen állnak a betegbe való áthelyezésre.

Az MHM használatára vonatkozó további részletekért minden laboratóriumnak a saját laboratóriumi eljárásait és protokolljait kell figyelembe vennie, amelyeket specifikusan a saját orvosi programjukhoz hoztak létre és optimalizáltak.

TÁROLÁSI UTASÍTÁSOK ÉS STABILITÁS

Tárolja a felbontatlan üvegeket hűtve, 2 °C és 8 °C között.

Ne fagyassza le, és ne tegye ki 39 °C feletti hőmérsékletnek.

Felbontás után eltartható:

A terméket a felbontástól számítva öt (5) héten belül fel kell használni, amennyiben az ajánlott körülmények között, 2 és 8 °C között tárolják.

ÓVINTÉZKEDÉSEK ÉS FIGYELMEZTETÉSEK

Ezt a terméket az asszisztált reprodukciós eljárásokban képzett személyzet általi felhasználásra szánták. Ezen eljárások közé tartozik az az alkalmazás is, amelyre ezt a terméket szánták. A termék nem használható petefészektüszők öblítési eljárásaira. Ez a médium nem használható petesejtöblítési eljárásokra.

A terméket használó intézmény felelős a termék nyomon követhetőségének fenntartásáért, és be kell tartania a nyomon követhetőségre vonatkozó országos előírásokat, ha vannak ilyenek.

Ne használja a médium olyan üvegét, amely részecskék jelenlétét, illetve zavarosságot mutat.

A 7,0 vagy alacsonyabb pH-érték elkerülése érdekében az MHM-et szorosan le kell zárni, amikor CO₂-inkubátorban használják.

A szennyeződéssel járó problémák elkerülésének érdekében kezelje aszeptikus technikák alkalmazásával, az eljárás befejezése után pedig dobja el az üvegben vagy fióban maradt összes felesleges médiumot.

ELLENJAVALLAT

A termék gentamicin-szulfátot tartalmaz. Megfelelő elővigyázatossági intézkedéseket kell tenni, hogy megbizonyosodjon, a beteg nem szennizált erre az antibiotikumra.

LIETUVIŲ K.

ES PERSPĖJIMAS. Skirta naudoti tik specialistams.

NAUDOJIMO INDIKACIJA

Gentamicinu papildyta MHM terpė yra skirta naudoti atliekant pagalbinio apvaisinimo procedūras, susijusias su gametų ir embrionų manipuliacijomis. MHM yra specialiai numatyta naudoti kaip kiaušialąsčių paėmimo terpė kiaušidžių folikulų aspiracijos procedūrų metu (bet ne kiaušidžių folikulams plauti), taip pat spermatozoidams išplauti prieš atliekant apvaisinimo procedūras *in vitro* fertilizacijos (IVF) ir intracitoplazminės spermatozoido injekcijos (ICSI) metodais ir embrionui perkelti į gimdą embrionų perkėlimo procedūrų metu.

ITAISO APRĄŠYMAS

MHM – tai dvejetainis buferintas tirpalas (HEPES ir MOPS), užtikrinantis saugią ir patikimą aplinką gametų bei embrionų gyvybingumui išlaikyti atliekant manipuliacijas aplinkos sąlygomis. Tai universalus tirpalas flotacijos metodui paruošti, spermatozoidams išplauti, kiaušialąstėms paimti ir skalauti, vidiniam gimdos apskėlinimui (IU), ICSI ir embrionams perkelti. Produktą būtina papildyti baltymais. MHM sudėtyje yra 10 µg/ml antibiotiko gentamicino sulfato.

KOKYBĖS UŽTIKRINIMAS

MHM – tai manipuliacinė terpė, kuri yra filtruota naudojant membranınį filtrą ir aseptiškai paruošta taikant gamybos metodus, patvirtintus 10³ sterilumo užtikrinimo lygiui (SAL) atitikti.

Kiekviena MHM partija buvo išbandyta pagal šiuos metodus: endotoksinų kiekio nustatymas pagal kardauodegno krabo (*Limulus polyphemus*) amebocitų lizato (LAL) analizės metodą (≤0,25 EU/ml); biologinio suderinamumo nustatymas pagal pelės embriono tyrimą (viena laštelė iki blastocistos stadijos per 96 val. subręsta ≥80 % atvejų); sterilumo nustatymas pagal šiuo metu patvirtintą Jungtinių Valstijų farmakopėjos sterilumo testą <71>; žmogaus spermatozoidų išgyvenamumo tyrimui (HSSA) (≥70 % judrumo praėjus 24 valandoms).

Visi rezultatai pateikiami pagal atskirų partijų parametrus parengtose analizės sertifikatuose, kuriuos galima gauti užsakius.

SUDĖTIS

Druskos ir jonai	pH indikatorius
Natrio chloridas	Fenolio raudonasis
Kalio chloridas	Buferinis tirpalas
Magnio sulfatas	Natrio bikarbonatas
Kalio fosfatas	HEPES
Kalčio chloridas	MOPS
Aminorūgšty	Energetinis substratas
Glicinas	Natrio laktatas
Taurinas	Glukozė
Antibiotikas	Natrio piruvatas
Gentamicino sulfatas	Vanduo
	Injekcinio vandens kokybė

BUFERINĖ SISTEMA

MHM terpės buferinę sistemą sudaro HEPES (N-2-hidroksietilpiperazin-N'-2-etansulfonrūgšties), MOPS (3 morfolinpropan-1-sulfonrūgšties) ir natrio hidrokarbonato junginys. Ši buferinė sistema padeda palaikyti optimalias fiziologinio lygio pH ribas (7,2–7,4) nenaudojant CO₂ inkubatoriaus.

PAPILDYMAS BALTYMINIAIS PRIEDAIS

Baltyminių medžiagų MHM sudėtyje nėra. Papildymo baltyminais priedais kiekis įvairiose laboratorijose gali skirtis; jis priklauso nuo gametų ir embrionų apdoravimo ir (arba) augimo fazės. Laikykitės savo laboratorijoje nustatytos tvarkos.

Toliau pateikiamos papildymo baltymų priedais rekomendacijos pagal MHM naudojimo indikacijas:

Taikant spermatozoidams išplauti

Naudojant „FUJIFILM Irvine Scientific Inc.“ žmogaus serumo albumino (ŽSA) 100 mg/ml tirpalą, rekomenduojama 5 mg/ml koncentracija. Norėdami paruošti 10 ml terpės, pridėkite 0,5 ml ŽSA tirpalo į 9,5 ml terpės. Naudojant „FUJIFILM Irvine Scientific, Inc.“ „Serum Substitute Supplement“ (SSS) 50 mg/ml baltyminių tirpalą, naudokite 10 % (v/v) koncentraciją. Norint paruošti 10 ml terpės, į 9,0 ml terpės reikia pridėti 1,0 ml SSS tirpalo.

Taikant kiaušialąstėms paimti

Naudojant ŽSA 100 mg/ml tirpalą, rekomenduojama 5 mg/ml koncentracija. Norėdami paruošti 10 ml terpės, pridėkite 0,5 ml ŽSA tirpalo į 9,5 ml terpės. Naudojant SSS 50 mg/ml baltyminių tirpalą, rekomenduojama 10 % (v/v) koncentracija. Norint paruošti 10 ml terpės, į 9,0 ml terpės reikia pridėti 1,0 ml SSS tirpalo.

Taikant embrionams perkelti

Naudojant HSA 100 mg/ml tirpalą, rekomenduojama 30 mg/ml koncentracija. Norėdami paruošti 10 ml terpės, pridėkite 3,0 ml ŽSA tirpalo į 7,0 ml terpės. Naudojant SSS 50 mg/ml baltyminių tirpalą, rekomenduojama 50 % (v/v) koncentracija. Norint paruošti 10 ml terpės, į 5,0 ml terpės reikia pridėti 5,0 ml SSS tirpalo.

NAUDOJIMO NURODYMAI

Toliau nurodyta bendra darbo eiga taikant pagal MHM naudojimo indikacijas.

Spermatozoidų išplovimas

Bendra darbo eiga taikant spermatozoidams išplauti iš juos supančio sėklos sekreto:

1. Terpė atšildykite iki kambario arba 37 °C temperatūros.
2. Palikite sėklą 20–30 minučių kambario temperatūroje suskystėti.
3. Laikydami metodinių sterilumo reikalavimų, perkeltite suskystėjusią spermą į sterilų 10 ml talpos kūginį centrifuginį mėgintuvėlį ir pridėkite 2–3 kartus didesnį kiekį kambario temperatūros MHM terpės (pavyzdžiui, 2 ml spermos mėginio reikia 4–6 ml terpės). Jei spermos ir terpės mišinio tūris viršytų 5 ml, padalinus mišinį į du sterilius kūginius centrifuginius mėgintuvėlius, tūrį mėgintuvėlyje sumažinus iki 4–6 ml, atgavinama daugiausiai spermatozoidų. Didelės klamos mėginius gali tekti papildomai apdoroti užtikrinant visišką spermos regeneraciją. (Žr. skyrių „Specialaus apdoravimo sąlygos“.)
4. Centrifuguokite mėgintuvėlius aplinkos temperatūroje 10 minučių santykinai centrifuginei jėgai (g) esant 200–300 x g.
5. Sterilia pipete nusiurbkite ir išmeskite virš spermatozoidų granulių nusistovėjusio supernatanto skystį. Tada spermatozoidus reikia resuspenduoti rodomoju pirštu atsargiai patapšnojant išorinę mėgintuvėlio sienelę. (Pastaba. Šiam etapui negalima naudoti sūkurinės maišyklės.) Spermą resuspenduokite 1–2 ml šviežios terpės kiekyje ir uždenę dangtelį atsargiai vartydami sumaišykite. Pirmojo centrifugavimo etapui padalintus mėginius dabar reikia vėl sujungti į vieną mėgintuvėlį. Dar kartą centrifuguokite pagal 4 etapo nurodymus.
6. Sterilia pipete nusiurbkite ir išmeskite supernatanto skystį ir atsargiai rankiniu būdu sujudindami resuspenduokite spermatozoidų granules. Papildykite šviežia terpe iki bendrojo 0,5 ml tūrio. Spermatozoidai yra paruošti pagalbinio apvaisinimo procedūroms. (Pastaba. Bendras nepastojusios moters gimdos tūris yra 15–56 ml).
7. Sterilia pipete nusiurbkite ir išmeskite supernatanto skystį ir atsargiai rankiniu būdu sujudindami resuspenduokite spermatozoidų granules. Papildykite šviežia terpe iki bendrojo 0,5 ml tūrio. Spermatozoidai yra paruošti pagalbinio apvaisinimo procedūroms. (Pastaba. Bendras nepastojusios moters gimdos tūris yra 15–56 ml).

SPECIALAUS APDOROJIMO SĄLYGOS

Didelės klamos spermos mėginių apdorojimas:

kai kurie mėginiai yra natūraliai labai klampūs, netgi po suskystėjimo. Šie mėginiai yra tiršto sirupo konsistencijos ir gali būti vieni iš sunkiausiai pasiduodančių apdoroti.

1. Įpylę terpę į ejakuliatą, mišinį atsargiai įsiurbkite švirkštu su 18 dydžio adata ir vėl išleiskite. Taip atsikirsite tam tikrą klampiųjų gleivių dalį.
2. Pirmojo centrifugavimo ciklo metu į centrifuginį mėgintuvėlį įpilkite ne daugiau kaip 5 ml pagal 1 etapo nurodymus paruoštą terpės ir spermos mišinio.

3. Jei po pirminio mėginio apdoravimo adata ir švirkštu (1 etapas) sperma įprastiniu būdu nesigranuliuoja (sperma bus drumstų skaidulų, prilipusių prie centrifuginio mėgintuvėlio dugno, pavidalo), atsargiai sterilia adata įsiurbkite į švirkštą kuo daugiau supernatanto, nesuardydami drumstų spermos skaidulų. Tai galima atlikti nuožuolinių adatos kraštą stipriai prispaudžiant prie centrifuginio mėgintuvėlio sienelės ir pradėdant lėtai siurbti nuo mėgintuvėlio viršaus žemyn. Nusiurbus kuo daugiau supernatanto, pridėkite 2 ar 3 ml šviežios terpės. Pakartokite mišinio persiurbimo švirkštu per 18 dydžio adatą procesą. Mišinį centrifuguokite dar kartą. Po antrojo apdoravimo spermatozoidai turėtų granuliuotis įprastiniu būdu.
4. Imant kitus mėginius, paciento reikia paprašyti ejakuliuoti su pertrūkiu, kad sumažėtų ejakulianto mėginio spermatozoidų frakcijos klampa.

Kiaušialąsčių paėmimas (netaikant kiaušidžių folikulams plauti)

MHM galima papildyti patikrintos kokybės farmacinės paskirties heparinu (2,5–10 vnt./ml), kad būtų mažesnis krešėjimas folikulų aspiratuose, kuriuose yra kraujas.

1. Baltymų priedais papildytą terpę palikite atšilti iki kambario arba 37 °C temperatūros.
2. Paimtus folikulų aspiratus reikia perkelti į tuščią sterilią lėkštelę.
3. Identifikuokite kiaušialąstes ir steriliomis pipetėmis, naudodami iš anksto perplautą ir priedais papildytą MHM terpę, jas išsiurbkite iš folikulų skysčio apsaugodami nuo galimo kraujo užkrato.
4. Plaukite kiaušialąstes pašildytoje ir priedais papildytoje MHM terpėje.
5. Perkelkite kiaušialąstes į pusiausvirintą mitybinę terpę toliau apdoroti.

Embrionų perkėlimas

Embrionų perkėlimas iš mitybinės terpės 3 dieną arba 5 dieną:

1. 3 dieną arba 5 dieną įvertinę embrionų brendimą, baltymų priedais papildytą terpę atšildykite iki kambario, arba 37 °C, temperatūros.
2. Kiekvienam embrionų rinkiniui paruoškite po vieną sterilių plovimo indelį su pašildyta baltymų priedais papildyta MHM terpe.
3. 1,0 ml pašildytos baltymų priedais papildytos MHM terpės įlašinkite į sterilius 1 šulinėlio lėkštelės šulinėlį.
4. Plovimo indelį padėkite ant pašildyto mikroskopo stalielio.
5. Plaukite embrionų plovimo indelyje po 2–3 kartus juos paimdami ir perkeldami į kitą vietą minimaliame pašildytos, baltymų priedais papildytos MHM terpės kiekyje šulinėlio viduje.
6. Perplauti embrionai yra paruošti perkelti į pacientės gimdą.

Prireikus išsamesnių gairių taikant MHM, kiekviena laboratorija turi vadovautis savo vidaus procedūrinėmis taisyklėmis ir metodiniais nurodymais, specialiai parengtais ir optimizuotais konkrečiai medicininei programai.

LAIKYMO SĄLYGOS IR STABILUMAS

Neatidarytus butelius laikykite šaldytuve nuo 2 °C iki 8 °C temperatūroje.

Negalima užšaldyti ar laikyti aukštesnėje nei 39 °C temperatūroje.

Naudojimo trukmė atidarius butelį

Produktą reikia sunaudoti per 5 (penkias) savaites po atidarymo, jei yra laikomas esant rekomenduojamoms sąlygoms – 2–8 °C temperatūroje.

ATSARGUMO PRIEMONĖS IR ĮSPĖJIMAI

Ši priemonė yra skirta naudoti darbuotojams, išmokytiems atlikti pagalbinio apvaisinimo procedūras. Tos procedūros apima priemonės taikymą pagal numatytąją paskirtį. Ši priemonė nėra skirta kiaušidžių folikulų plovimo procedūrai. Ši terpė nėra skirta naudoti atliekant kiaušialąsčių plovimo procedūras.

Šią priemonę naudojanti įstaiga yra atsakinga už produkto atsekamumo duomenų kaupimą ir privalo laikytis savo šalies norminių atsekamumo užtikrinimo reikalavimų, jei taikoma

Negalima naudoti jokio terpės butelio, jei skystyje matyti kietųjų dalelių ar jis atrodo drumstas.

Laikant CO₂ inkubatoriuje, MHM reikia sandariai uždenkti, kad šarmingumas nesumažėtų iki pH 7,0 ar žemesnio lygio.

Norint išvengti užkrėtimo, naudojimo metu reikia laikytis metodinių aseptikos reikalavimų, o atlikus procedūrą – išmesti visus butelyje ar buteliuke likusios terpės likučius.

KONTRAINDIKACIJOS

Produkto sudėtyje yra gentamicino sulfato. Būtina imtis tinkamų atsargumo priemonių užtikrinant, kad pacientė nėra alergiška šiam antibiotikui.

TÜRKÇE

AB DİKKAT: Sadece Mesleki Kullanım için.

KULLANIM ENDİKASYONU

Gentamisin Sülfatlı MHM ürününün gametler veya embriyoların manipülasyonu ile ilgili yardımcı üreme işlemlerinde kullanılması amaçlanmıştır. Spesifik olarak MHM ürünü over folikülü aspirasyon işlemleri sırasında bir oosit alma vasatı olarak (over foliküllerinin yıkanarak çıkarılması için değil), İVF ve ICSI fertilizasyon işlemleri öncesinde sperm yıkamak ve embriyo transfer işlemleri sırasında embriyonun uterusu aktarılmasında kullanılmak üzere endikedir.

CİHAZ TANIMI

MHM çevre koşulları altında manipülasyonlar sırasında gametler ve embriyoların canlılığını sürdürmek üzere güvenli ve güvenilir bir ortam sağlayan çift tamponlu (HEPES ve MOPS) bir solüsyondur. Yüzme testi için hazırlama, sperm yıkama, oosit alma ve durulama, IUI, ICSI ve embriyo transferi için çok yönlü bir solüsyondur. Ürün için protein takviyesi gereklidir. MHM 10 µg/mL Gentamisin Sülfat antibiyotikini içerir.

KALİTE GÜVENÇE

MHM, 10⁻³ değerinde bir sterilite güvence düzeyini (SAL) karşılamak için doğrulanmış üretim işlemlerine göre membrandan filtrelenmiş ve aseptik olarak işlenmiştir.

Her MHM lotu şunlar için test edilir:

Limulus Amebosit Lizat (LAL) metodolojisi ile endotoksin (≤0,25 EU/mL)

Fare Embriyo Testiyle biyoyoumluluk (96 saatte ≥%80 genişlemiş blastokist ile tek hücre)

Mevcut USP Sterilite Testi <71> ile sterilite

İnsan Sperm Sağkalım Testi (HSSA) (24 saatte ≥%70 motilite)

Tüm sonuçlar istek üzerine sağlanabilecek, lota özel bir Analiz Sertifikasında bildirilir.

BİLEŞİM:

<u>Tuzlar ve İyonlar</u>	<u>pH Göstergesi</u>
Sodyum Klorür	Fenol Kırmızısı
Potasyum Klorür	
Magnezyum Sülfat	<u>Tampon</u>
Potasyum Fosfat	Sodyum Bikarbonat
Kalsiyum Klorür	HEPES
	MOPS
<u>Amino Asitler</u>	<u>Enerji Substratı</u>
Glisin	Sodyum Laktat
Taurin	Glukoz
<u>Antibiyotik</u>	Sodyum Piruvat
Gentamisin Sülfat	
	<u>Su</u>
	Enjeksiyonluk Su Kalitesi

TAMPON SİSTEMİ

MHM, bir HEPES (N-2-Hidroksietilpiperazin-N'-2-etansülfonik asit), MOPS (3 Morfolinopropan-1-sülfonik asit) ve Sodyum Bikarbonat kombinasyonundan oluşan bir tamponlama sistemi kullanır. Bu tamponlama sistemi fizyolojik aralıkta pH seviyesi (7,2 - 7,4) sağlar ve CO₂ inkübatörü kullanımı gerektirmez.

PROTEİN TAKVİYESİ

MHM protein bileşenleri içermez. Protein takviyesi miktarı laboratuvarlar arasında değişebilir ve gamet ve embriyoları işleme/büyütmeye fazlasıyla bağlıdır. Kendi laboratuvar protokollerinize başvurun.

Aşağıdakiler MHM kullanım endikasyonları temelinde protein takviyesi için önerilerdir.

Sperm Yıkama için:

FUJIFILM Irvine Scientific Inc. İnsan Serum Albumini (İSA), 100 mg/mL solüsyon kullanırken 5 mg/mL olarak kullanın. 10 mL vasat için 9,5 mL vasata 0,5 mL İSA solüsyonu ekleyin. FUJIFILM Irvine Scientific, Inc. Serum Substitute Supplement (SSS), 50 mg/mL protein solüsyonu kullanırken %10 (h/h) olarak kullanın. 10 mL vasat için 9,0 mL vasata 1,0 mL SSS ekleyin.

Oosit Alma için:

İSA 100 mg/mL solüsyon kullanırken 5 mg/mL olarak kullanın. 10 mL vasat için 9,5 mL vasata 0,5 mL İSA solüsyonu ekleyin. SSS 50mg/mL protein solüsyonu kullanırken %10 (h/h) olarak kullanın. 10 mL vasat için 9,0 mL vasata 1,0 mL SSS ekleyin.

Embriyo Transferi için:

İSA 100 mg/mL solüsyon kullanırken 30 mg/mL olarak kullanın. 10 mL vasat için 7,0 mL vasata 3,0 mL İSA solüsyonu ekleyin. SSS 50 mg/mL protein solüsyonu kullanırken %50 (h/h) olarak kullanın. 10 mL vasat için 5,0 mL vasata 5,0 mL SSS ekleyin.

KULLANMA TALİMATI

Aşağıdakiler MHM kullanım endikasyonları için genel işlemlerdir.

Sperm Yıkama:

Sperm çevresindeki seminal sıvının yıkanarak giderilmesine yönelik genel bir işlem şunları içerir:

1. Vasatı oda sıcaklığına veya 37°C'ye getirin.
2. Meninin oda sıcaklığında 20 - 30 dakika boyunca sivilaşmasını bekleyin.
3. Aseptik teknikler kullanarak, sivilaştırılmış meniye 10 mL'lik steril bir konik santrifüj tüpüne aktarın ve oda sıcaklığındaki MHM ürününden 2 - 3 hacim ekleyin (örneğin 2 mL'lik bir meni örneği 4 - 6 mL vasat gerektirir). Eğer sperm ile vasat karışımının hacmi 5 mL'den fazla olursa iki steril konik santrifüj tüpüne bölün ve tüp başına hacmi 4 - 6 mL şeklinde azaltın; sperm geri kazanımı maksimize edilecektir. Tam sperm geri kazanımı sağlamak için yüksek viskoziteli örneklerin daha fazla işlenmesi gerekebilir. (Bkz. Özel İşlem Hususları kısmı).
4. Tüpleri ortam sıcaklığında, 10 dakika boyunca 200 - 300 x g değerinde bir kuvvetle santrifüjleyin.
5. Steril bir pipet kullanarak aspirasyon yoluyla "sperm pelleti" üzerindeki süpernatanı çıkarıp atın. Bunun ardından sperm dıştan işaret parmağıyla tüpe nazikçe fiske vurularak tekrar süspansiyon haline getirilmelidir. (Not: Bu adım için vorteks karıştırıcı kullanmayın). Sperm 1 - 2 mL yeni vasat içinde tekrar süspansiyon haline getirin, tekrar kapağını kapatın ve inversiyon yoluyla nazikçe karıştırın. İlk santrifüjleme adımı için bölünen örnekler şimdi tek tüpte birleştirilmelidir.
6. Adım 4'teki gibi tekrar santrifüjleyin.
7. Steril bir pipet kullanarak süpernatanı çıkarıp atın ve manuel ajitasyon yoluyla sperm pelletini tekrar nazikçe süspansiyon haline getirin. 0,5 mL'lik bir son hacim için yeni vasat ekleyin. Sperm yardımcı üreme işlemleri için hazırdır. (Not: Nongravid uterusun toplam hacmi 15 - 56 mL'dir.)

ÖZEL İŞLEM HUSUSLARI

Yüksek viskoziteli meni örneğinin işlenmesi:

Bazı örnekler sivilaştırma sonrasında bile doğal olarak yüksek viskoziteye sahiptir. Bu örnekler koyu şurup kıvamına sahiptir ve işlenmeleri çok zor olabilir.

1. Bir ejakülate vasat eklendikten sonra karışımı 18 G bir iğne ve şırınga ile aspirasyonu yavaşça alıp atın. Bu, visküz mukusun bir kısmını kırarak atacaktır.
2. İlk santrifüjleme adımı için Adım 1'den vasat-sperm karışımı miktarını santrifüj tüpü başına 5 mL ile sınırlandırın.
3. Eğer örneğin iğne ve şırınga ile ön işlemeden (Adım 1) sonra sperm normal bir şekilde "pelletleşmezse" (sperm santrifüj tüpünün dibine tutunmuş "bulanık bir lif" şeklinde görünecektir), steril bir iğne ve şırınga kullanarak ve "bulanık sperm lifini" bozmadan süpernatanın mümkün olduğunca çoğunu dikkatli bir şekilde alın. Bu, iğnenin eğimli ucunu santrifüj tüpünün duvarına sıkıca dayayarak ve aspirasyonu tüpün tepesinden başlatıp yavaşça aşağı doğru giderek gerçekleştirilebilir. Süpernatanın mümkün olduğunca çok kısmı çıkarıldığında, 2 - 3 mL yeni vasat ekleyin. Karışımı 18 G bir iğne ve şırınga ile çekme işlemini tekrarlayın. Karışımı tekrar santrifüjleyin. Sperm normal olarak ikinci işlemde sonra pelletleşmelidir.

4. Sonraki örnek alımlarında hastadan örneğin sperm bakımından zengin kısmındaki viskoziteyi minimize edecek olan bir split ejakülat (ilk birkaç damla) sağlanması istenmelidir.

Oosit Alma (over foliküllerinin yıkanarak çıkarılması için değil):

MHM, kan içeren foliküler aspiratların pıhtılaşmasını azaltmak üzere kalite testlerinden geçmiş farmasötik sınıf heparinle (2,5 - 10 ünite/mL) takviye edilebilir.

1. Protein takviyeli vasatı oda sıcaklığına veya 37°C'ye getirin.
2. Toplanan folikül aspiratları boş bir steril tabağa aktarılmalıdır.
3. Oositleri tanımlayın ve bunları takviye edilmiş MHM ile önceden durulanmış steril pipetler kullanarak foliküler sıvıdan ve olası kan kontaminasyonundan alın.
4. Oositleri ısıtılmış ve takviye edilmiş MHM içinde durulayın.
5. Oositleri ek muamele için dengelenmiş bir kültür vasatına koyun.

Embriyo Transferi:

Embriyoların kültür vasatından gün 3 veya gün 5'te aktarılması:

1. Embriyoların gelişme açısından değerlendirilmesinden sonra gün 3 veya gün 5'te protein takviyeli vasatı oda sıcaklığına veya 37°C'ye getirin.
2. Her embriyo seti için önceden ısıtılmış protein takviyeli MHM içeren bir steril yıkama tabağı hazırlayın.
3. Önceden ısıtılmış protein takviyeli MHM ürününden 1,0 mL'yi 1 kuyuluk bir tabağın kuyusuna koyun.
4. Yıkama tabağını ısıtılmış bir tablaya koyun.
5. Embriyoları 2 - 3 kez alıp bunları kuyu içinde minimum hacimde önceden ısıtılmış protein takviyeli MHM içinde hareket ettirerek yıkama tabağında yıkayın.
6. Yıkadıktan sonra embriyolar hastaya aktarılmaya hazırdır.

MHM kullanımı hakkında ek ayrıntılar için her laboratuvar kendi tıbbi programınıza göre özellikle geliştirilmiş ve optimize edilmiş kendi laboratuvar işlemleri ve protokollerine başvurmalarıdır.

SAKLAMA TALİMATI VE STABİLİTE

Açılmamış şişeleri 2°C ile 8°C arasında buzdolabında saklayın.

Dondurmayın veya 39°C üzerinde sıcaklıklara maruz bırakmayın.

Şişe Açılmasından Sonraki Süre:

Ürün önerilen 2°C - 8°C koşullarında saklandığında açıldıktan sonra beş (5) hafta içinde kullanılmalıdır.

ÖNLEMLER VE UYARILAR

Bu cihazın yardımcı üreme işlemleri konusunda eğitimli personelce kullanılması amaçlanmıştır. Bu işlemlere bu cihazın kullanımının amaçlandığı, amaçlanmış uygulama dahilidir. Bu cihaz over foliküllerinin yıkanarak çıkarılması işleminde kullanım için değildir. Bu vasatlar oositlerin yıkanarak çıkarılması işlemlerinde kullanım için değildir.

Bu cihazı kullanan kurum, ürünün izlenebilirliğinin sürdürülmesinden sorumludur ve geçerliyse izlenebilirlikle ilgili ulusal düzenlemelere uymak zorundadır

Partikül madde veya bulanıklık bulguları gösteren herhangi bir vasat şişesini kullanmayın.

MHM bir CO₂ inkübatöründe kullanıldığında 7,0 veya altında pH seviyelerinden kaçınmak için kapağı sıkıca kapalı olmalıdır.

Kontaminasyon sorunlarından kaçınmak için aseptik tekniklerle kullanın ve açıldıktan sonra herhangi bir kontaminasyon bulgusu gösteren herhangi bir fazla vasatı atın.

KONTRENDİKASYON

Ürün Gentamisin Sülfat içerir. Hastanın bu antibiyotige karşı hassas olmadığından emin olmak için gerekli önlemler alınmalıdır.

SLOVENČINA

UPOZORNENIE V EÚ: Len na profesionálne použitie.

INDIKÁCIA NA POUŽITIE

MHM s gentamicínsulfátom je určené na použitie pri postupoch asistovanej reprodukcie, ktoré zahŕňajú manipuláciu s gamétami a embryami. MHM je špecificky indikované na použitie ako médium na získavanie oocytov počas postupov aspirácie ovariálnych folikulov (nie na preplachovanie ovariálnych folikulov), premývanie spermií pred oplodňovacími zákrokmi IVF a ICSI a na prenos embrya do matrice pri zákrokoch prenosu embryí.

POPIS ZARIADENIA

MHM je dvojito puľovaný roztok (HEPES a MOPS), ktorý poskytuje bezpečné prostredie na udržanie viability gamét a embryí počas manipulácie pri okolitých podmienkach. Je to všestranne využiteľný roztok na prípravu plávania, premývania spermií, získavania a oplach oocytov, IUI, ICSI a prenos embryí. Produkt si vyžaduje bielkovinový doplnok. MHM obsahuje 10 µg/ml antibiotika gentamicínsulfátu.

KONTROLA KVALITY

MHM je manipulačné médium, ktoré je filtrované cez membránu a asepticky spracované podľa výrobných postupov, u ktorých bolo overené, že spĺňajú úroveň zarúčenej sterility (SAL) of 10⁻³.

Každá šarža MHM je testovaná na stanovenie:

endotoxínov pomocou testu amébocytového lyzátu z ostrepa amerického (LAL) (≤ 0,25 EU/ml) biokompatibilitu testom sterility embryí myši (v jednej bunke ≥ 80 % expandovanej blastocysty po 96 hodinách) sterility pomocou aktuálneho testu sterility USP <71> test prežitia ľudských spermií (HSSA) (≥ 70 % pôvodnej motility po 24 hodinách)

Všetky výsledky sa zaznamenávajú na certifikát analýzy pre špecifickú šaržu, ktorý je dostupný na požiadanie.

ZLOŽENIE:

<u>Soli a ióny</u>	<u>Indikátor pH</u>
chlorid sodný	fenolová červená
chlorid draselný	
síran horečnatý	<u>Puľer</u>
fosforečnan draselný	hydrogénuhlčitan sodný
chlorid vápenatý	HEPES
	MOPS
<u>Aminokyseliny</u>	<u>Energetický substrát</u>
glycín	laktát sodný
taurín	glukóza
	pyruvát sodný
<u>Antibiotikum</u>	
gentamicínsulfát	
	<u>Voda</u>
	kvalita vody na injekciu

PUFROVÝ SYSTÉM

používa puľovací systém zložený z kombinácie HEPES (N-2-hydroxyetylpiiperazin-N-2-etánsulfónovej kyseliny), MOPS (3 morfolínopropán-1-sulfónovej kyseliny) a hydrogénuhlčitanu sodného. Tento puľovací systém zabezpečuje udržiavanie pH vo fyziologickom rozmedzí (7,2 až 7,4) a nevyžaduje si použitie inkubátora CO₂.

DOPLNENIE BIELKOVÍN

MHM neobsahuje bielkovinové zložky. Množstvo doplnenie bielkovín sa môže líšiť v rôznych laboratóriách a závisí od fázy spracovania/rastu gamét a embryí. Pozrite si protokoly vo vašom laboratóriu.

Nasledujúce odporúčania na doplnenie bielkovín vychádzajú z indikácií na použitie MHM:

Na premývanie spermií:

Ak budete používať ľudský sérový albumín (HSA) od spoločnosti Irvine Scientific, Inc., roztok 100 mg/ml, použite ho v objeme 5 mg/ml. Na získanie 10 ml média do 9,5 ml média pridajte 0,5 ml roztoku HSA. Ak budete používať doplnok sérového suplementu (SSS) od spoločnosti FUJIFILM Irvine Scientific, Inc., bielkovinový roztok 50 mg/ml, použite ho v pomere 10 % (v/v). Na získanie 10 ml média do 9,0 ml média pridajte 1,0 ml roztoku SSS.

Na získavanie oocytov:

Ak budete používať HSA, roztok 100 mg/ml, použite ho v objeme 5 mg/ml. Na získanie 10 ml média do 9,5 ml média pridajte 0,5 ml roztoku HSA. Ak budete používať SSS, bielkovinový roztok 50 mg/ml, použite ho v pomere 10 % (v/v). Na získanie 10 ml média do 9,0 ml média pridajte 1,0 ml roztoku SSS.

Na prenos embrya:

Ak budete používať HSA, roztok 100 mg/ml, použite ho v objeme 30 mg/ml. Na získanie 10 ml média do 7 ml média pridajte 3 ml roztoku HSA. Ak budete používať SSS, bielkovinový roztok 50 mg/ml, použite ho v pomere 50% (v/v). Na získanie 10 ml média do 5,0 ml média pridajte 5,0 ml roztoku SSS.

NÁVOD NA POUŽITIE

Nasledujúce kroky predstavujú všeobecný postup použitia MHM.

Premývanie spermií:

Všeobecný postup na premývanie spermií od okolitej semennej tekutiny zahŕňa:

1. Médium zahrejte na laboratórnu teplotu alebo 37 °C.
2. Semeno nechajte skvapalniť pri izbovej teplote na 20 až 30 minút.
3. Pomocou aseptickej techniky preneste skvapalnené semeno do sterilnej 10 ml kónickej skúmavky na odstreďovanie a pridajte 2 až 3 objemy MHM izbovej teploty (napríklad 2 ml vzorky semena si vyžaduje 4 až 6 ml média). Ak je objem zmesi spermií s médiom väčší než 5 ml, rozdeľte ho do dvoch sterilných kónických skúmaviek na odstreďovanie; minimalizáciou objemu v každej skúmavke na 4–6 ml sa maximalizuje výťažok spermií. Vysoko viskózne vzorky si môžu vyžadovať ďalšie spracovanie na zaistenie úplného výťažku spermií. (Pozri časť Osobitné ohľady pri spracovaní.)
4. Skúmavky odstreďte pri okolitej teplote 10 minút pri gravitačnej sile 200 – 300 x g.
5. Pomocou sterilnej pipety aspiráciu odstráňte a zlikvidujte supernatant nad „peletou spermií“. Spermie sa potom majú resuspendovať jemným poklepaním skúmavky zvonka ukazovákom. (Poznámka: Na tento krok nepoužívajte vírivý mixér.)Spermie resuspendujte v 1 až 2 ml čerstvého média, nasadte vrchnák a jemne premiešajte prevrátením. Vzorky, ktoré boli frakcionované na prvý odstredivý krok, majú byť teraz znovu skombinované do jednej skúmavky.
6. Opakujte odstreďenie tak ako v kroku 4.
7. Pomocou sterilnej pipety odstráňte a zlikvidujte supernatant a peletu spermií resuspendujte jemným ručným pretrepaním. Pridajte čerstvé médium na konečný objem 0,5 ml. Spermie sú pripravené na postupy asistovanej reprodukcie. (Poznámka: Celkový objem netehotej matrice je 15 – 56 ml).

OSOBITNÉ OHĽADY PRI SPRACOVANÍ

Spracovanie vysoko viskózných vzoriek semena:

Niektoré vzorky sú prirodzene vysoko viskózne aj po skvapalnení. Tieto vzorky majú konzistenciu hustého sirupu a môžu patriť k najťažším na spracovanie.

1. Keď je médium pridané k ejakulátu, zmes jemne aspirujte a vytlačte pomocou ihly veľkosti 18 G a striekačky. Tým sa „zostrihne“ časť viskózných hlienov.
2. Pri prvom odstredivom kroku obmedzte množstvo zmesi média a spermií z kroku 1 na 5 ml na skúmavku na odstreďovanie.
3. Ak po predbežnom spracovaní vzorky ihlou a striekačkou (krok 1) spermie nevytvoria „peletu“ normálnym spôsobom (spermie budú vyzerať ako „zakalené vlákno“ priľnuté ku dnu skúmavky na odstreďovanie), pozorne aspirujte čo najviac supernatantu bez porušenia „zakaleného vlákna spermií“ pomocou sterilnej ihly a striekačky. Toto možno vykonať pevným pridržaním skoseného okraja ihly oproti stene skúmavky na odstreďovanie a pomalým začatím aspirácie od vrchu skúmavky smerom nadol. Keď je odstránené čo najväčšie množstvo supernatantu,

pridajte 2 alebo 3 ml čerstvého média. Zopakujte proces natahovania zmesi pomocou ihly veľkosti 18 G a striekačky. Zmes znovu odstreďte. Po druhom spracovaní by spermie mali vytvoriť normálnu peletu.

4. Pri ďalších odberoch vzoriek treba požiadať pacienta, aby vyprodukoval rozdelený ejakulát, čím sa minimalizuje viskozita časti vzorky bohatej na spermie.

Získavanie oocytov (nie na preplachovanie ovariálnych folikulov):

MHM môže byť doplnené heparínom farmaceutickej kvality (2,5 – 10 jednotiek/ml) na zníženie zrážania folikulárných aspirátov obsahujúcich krv.

1. Médium doplnené o bielkoviny zahrejte na izbovú teplotu alebo 37 °C.
2. Odobrané folikulárne aspiráty sa majú preniesť do prázdnej sterilnej misky.
3. Identifikujte oocyty a odstráňte ich z folikulárnej tekutiny a možnej kontaminácie krvou pomocou sterilných pipiet s použitím vopred opláchnutého a doplneného MHM.
4. Oocyty prepláchnite v zohriatom a doplnenom MHM.
5. Oocyty vložte do uštalého kultivačného média na ďalšiu manipuláciu.

Prenos embrya:

Prenos embryí z kultivačného média na 3. alebo 5. deň:

1. Na 3. alebo 5. deň po zhodnotení vývoja embryí zahrejte médium doplnené o bielkoviny na izbovú teplotu alebo 37 °C.
2. Pripravte jednu sterilnú misku na premývanie obsahujúcu vopred zohriate MHM doplnené o bielkoviny pre každý súbor embryí.
3. Nadávajte 1,0 ml vopred zohriateho MHM doplneného o bielkoviny do jamky sterilnej misky s 1 jamkou.
4. Misku na premývanie položte na vyhrievanú plošinu.
5. Embryá v miske na premývanie premyte tak, že embryá 2 – 3-krát vyberte a pohybujte nimi v minimálnom objeme vopred zohriateho MHM doplneného o bielkoviny v jamke.
6. Pro premytí sú embryá pripravené na prenos do pacientky.

Ďalšie podrobnosti o použití MHM by malo každé laboratórium čerpať zo svojich vlastných laboratórnych postupov a protokolov, ktoré boli špecificky vypracované a optimalizované pre váš individuálny medicínsky program.

POKYNY NA UCHOVÁVANIE A STABILITU

Neotvorené fľaše uchovávajúte v chladničke pri teplote 2 °C až 8 °C.

Nezmrazujte ani nevystavujte teplotám nad 39 °C.

Dĺžka trvanlivosti po otvorení fľaše:

Produkt sa má použiť do piatich (5) týždňov od otvorenia, keď sa uchováva pri odporúčaných podmienkach pri teplote 2 °C až 8 °C.

BEZPEČNOSTNÉ OPATRENIA A VAROVANIA

Táto pomôcka je určená na výhradné použitie personálom vyškoleným na postupy asistovanej reprodukcie. Tieto postupy zahŕňajú určené použitie, na ktoré je táto pomôcka určená. Táto pomôcka nie je určená na použitie pri postupe preplachovania ovariálnych folikulov. Toto médium nie je určené na použitie pri postupoch preplachovania oocytov.

Pracovisko používateľa tohto zariadenia zodpovedá za udržiavanie sledovateľnosti tohto produktu a musí v potrebných prípadoch spĺňať národné predpisy týkajúce sa sledovateľnosti.

Nepoužívajte žiadnu fľašu s médiom, ktoré vykazuje známky tuhých častíc alebo zákalu.

MHM musí mať tesne nasadený uzáver, keď sa používa v inkubátore CO₂, aby sa nevytvorila hladina pH 7,0 alebo menej.

S pomocou vždy manipulujte s použitím aseptických techník, aby nevznikli problémy s kontamináciou a zlikvidujte všetko nadbytočné médium, zvyšujúce vo fľaši alebo ampulke po dokončení postupu.

KONTRAINDIKÁCIE

Tento produkt obsahuje gentamicínsulfát. Musia sa vykonať primerané bezpečnostné opatrenia aby sa zaistilo, že pacient nie je senzibilizovaný na toto antibiotikum.

БЪЛГАРСКИ

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ ЗА ЕС: Само за професионална употреба.

ПОКАЗАНИЯ ЗА УПОТРЕБА

MHM (многофункционална среда за обработка) с гентамицин сулфат е предназначена за употреба в процедури за асистирана репродукция, които включват манипулация с гамети или ембриони. По-конкретно, MHM е предназначена за използване като среда за извличане на ооцити по време на процедури на аспириране на яйчников фоликул (не за промиване на яйчникови фоликули), промиване на сперма преди процедури на *in vitro* фертилизация (IVF) и интрацитоплазмано спермално инжектиране (ICSI), както и за транспортиране на ембриона в матката по време на процедури за трансфер на ембрион.

ОПИСАНИЕ НА ИЗДЕЛИЕТО

MHM е двойно буферизиран разтвор (HEPES и MOPS), който осигурява безопасна и сигурна среда за поддържане на жизнеспособността на гамети и ембриони по време на манипулации при околни условия. Тя представлява универсален разтвор за подготвяне на „swim up“ среда, промиване на сперма, извличане на ооцити и изплакване, вътрематочна инсеминация (IUI), интрацитоплазмано спермално инжектиране (ICSI) и трансфер на ембрион. Продуктът има нужда от протеиново суплементиране. MHM съдържа 10 µg/ml антибиотик гентамицин сулфат.

КОНТРОЛ НА КАЧЕСТВОТО

MHM е среда за обработка, филтрирана чрез мембрана и асептично обработена съгласно производствени процедури, валидирани за съответствие с ниво на гарантирана стерилност (SAL) 10⁻³.

Всяка партида MHM е тествана за: ендотоксин чрез лимулус амебодит лизат (LAL) методология (≤ 0,25 EU/ml), биосъвместимост чрез анализ с миши ембрион (MEA) (една клетка при ≥ 80% разширен бластоцист 96 часа), стерилност чрез актуалния тест за стерилност по USP (Фармаколеята на САЩ) <71>, анализ за преживяемост на човешка сперма (HSSA) (≥ 70% подвижност при 24 часа).

Всички резултати са посочени в конкретния за партидата Сертификат за анализ, който е достъпен по заявка.

СЪСТАВ:

Соли и йони	pH индикатор
Натриев хлорид	Фенол, червен
Калиев хлорид	
Магнезиев сулфат	Буфер
Калиев фосфат	Натриев бикарбонат
Калциев хлорид	HEPES
	MOPS
Аминокиселини	Енергиен субстрат
Глицин	Натриев лактат
Таурин	Глюкоза
Антибиотик	Натриев пируват
Гентамицин сулфат	
	Вода
	Качество – вода за инжектиране

БУФЕРНА СИСТЕМА

MHM използва буферна система, съставена от комбинация от HEPES (N-2-хидроксиметилпиперазин-N'-2-етансулфонова киселина), MOPS (3 морфолинопропан-1-сулфонова киселина) и натриев бикарбонат. Тази буферна система осигурява поддържане на pH ниво във физиологичния диапазон (7,2 до 7,4) и не изисква използване на CO₂ инкубатор.

СУПЛЕМЕНТИРАНЕ С ПРОТЕИН

MHM не съдържа протеинови компоненти. Количеството протеин за суплементиране може да варира при различните лаборатории и зависи от фазата на обработване/растеж на гаметите и ембрионите. Направете справка с протоколите на конкретната лаборатория.

По-долу следват препоръки за протеиново суплементиране въз основа на показанията за употреба на MHM:

За промиване на сперма:

Когато използвате човешки серумен албумин на FUJIFILM Irvine Scientific Inc. (HSA), 100 mg/ml разтвор, използвайте при 5 mg/ml. За 10 ml среда добавете 0,5 ml HSA разтвор към 9,5 ml среда. Когато използвате Serum Substitute Supplement (серумен заместителен суплемент) (SSS) на FUJIFILM Irvine Scientific, Inc., 50 mg/ml протеинов разтвор, използвайте при 10% (v/v). За 10 ml среда добавете 1,0 ml SSS към 9,0 ml среда.

За извличане на ооцити:

Когато използвате HSA, 100 mg/ml разтвор, използвайте при 5mg/ml. За 10 ml среда добавете 0,5 ml HSA разтвор към 9,5 ml среда. Когато използвате SSS, 50 mg/ml протеинов разтвор, използвайте при 10% (v/v). За 10 ml среда добавете 1,0 ml SSS към 9,0 ml среда.

За трансфер на ембрион:

Когато използвате HSA, 100 mg/ml разтвор, използвайте при 30 mg/ml. За 10 ml среда добавете 3,0 ml HSA разтвор към 7,0 ml среда. Когато използвате SSS, 50 mg/ml протеинов разтвор, използвайте при 50% (v/v). За 10 ml среда добавете 5,0 ml SSS към 5,0 ml среда.

УКАЗАНИЯ ЗА УПОТРЕБА

По-долу следват основни процедури за показанията за употреба на MHM.

Промиване на сперма:

Основната процедура за промиване на сперма от нейната околна семенна течност включва:

1. Поставете средата на стайна температура или при 37° C.
2. Оставете семенната течност да се втечни на стайна температура за 20 до 30 минути.
3. Чрез асептични методи прехвърлете втечената семенна течност в стерилна, конична, центрофужна епруветка от 10 ml и добавете 2 до 3 обема MHM със стайна температура (например 2 ml проба на семенна течност изисква 4 до 6 ml среда). Ако обемът на сместа със сперма и среда е по-голям от 5 ml, разделете в две стерилни, конични, центрофужни епруветки, намалявайки обема на епруветка до 4 – 6 ml, възстановяването на спермата ще се увеличи. Проби с голям вискозитет може да изискват допълнително обработване, за да се осигури пълно възстановяване на спермата. (Вижте раздела „Съображения за специална обработка“.)
4. Центрофугирайте епруветките при околна температура за 10 минути, използвайки сила на центрофугиране g от 200 – 300 x g.
5. С помощта на стерилна пипета отстранете и изхвърлете супернатанта над „пелетата сперма“ чрез аспирация. След това спермата трябва да се ресуспендира чрез леко потупване на епруветката външно с показалеца на ръката. (Забележка: Не използвайте вихров миксер за тази стъпка.) Ресуспендирайте спермата в 1 до 2 ml прясна среда, поставете отново капачката и внимателно смесете с преобръщане. Пробите, които са били разделени за първата стъпка на центрофугиране, сега трябва да се комбинират отново в една епруветка.
6. Центрофугирайте, както в стъпка 4.
7. С помощта на стерилна пипета отстранете и изхвърлете супернатанта и ресуспендирайте пелетата сперма внимателно, като разклатите ръчно. Добавете прясна среда към окончателния обем от 0,5 ml. Спермата е готова за процедури за асистирана репродукция. (Забележка: Общият обем на празната матка е 15 – 56 ml.)

СЪОБРАЖЕНИЯ ЗА СПЕЦИАЛНА ОБРАБОТКА

Обработване на проба от семенна течност с голям вискозитет:

Някои проби са с голям вискозитет в естественото си състояние дори след втечняване. Тези проби имат консистенцията на гъст сироп и може да са много трудни за обработване.

1. След добавяне на средата към еякулат аспирирайте и изтласкайте обратно сместа внимателно, като използвате спринцовка и игла с размер 18 G (Gauge). Това ще „отнеме“ част от вискозната слуз.
2. Ограничете количеството смес среда-сперма от стъпка 1 до 5 ml на центрофужна епруветка за първата стъпка на центрофугиране.
3. Ако след предварителната обработка на пробата с иглата и спринцовката (стъпка 1) спермата не образува „пелета“ по нормален начин (спермата ще изглежда като „мътно влакно“, прикрупено към дъното на центрофужната епруветка), внимателно аспирирайте максималното възможно количество супернатант, без да нарушавате „мътното влакно сперма“, с помощта на стерилна игла и спринцовка. Това може да се извърши, като държите скосения край на иглата плътно към стената на центрофужната епруветка и бавно започнете аспириране от горния край на епруветката в посока надолу. След като отстраните максималното възможно количество супернатант, добавете 2 или 3 ml прясна среда. Повторете процедурата на изтегляне на сместа през спринцовката и иглата с размер 18 G (Gauge). Центрофугирайте отново сместа. Спермата трябва да образува пелета нормално след второто обработване.
4. При следващите събирания на проби, от пациента трябва да се поиска да предостави разделен еякулат, което ще намали вискозитета в богатата на сперматозоиди част от пробата.

Извличане на ооцити (не за промиване на яйчникови фоликули):

MHM може да бъде суплементирана с тестван за качество хепарин от фармацевтичен клас (2,5 – 10 единици/ml), за да се намали образуването на съсиреци във фоликулните аспирати, съдържащи кръв.

1. Поставете суплементираната с протеин среда на стайна температура или при 37° C.
2. Събраните фоликулни аспирати трябва да се прехвърлят в празен стерилен съд.
3. Идентифицирайте ооцитите и ги отстранете от фоликулната течност и възможната кръвна контаминация с помощта на стерилни пипети, предварително изплакнати със суплементирана MHM.
4. Изплакнете ооцитите в затоплена и суплементирана MHM.
5. Поставете ооцитите в еквилибрирана културелна среда за последващо обработване.

Трансфер на ембрион:

Прехвърляне на ембриони от културелна среда в ден 3 или ден 5:

1. В ден 3 или ден 5, след оценка на развитието на ембрионите, поставете суплементираната с протеин среда на стайна температура или при 37° C.
2. Пригответе един стерилен съд за промиване, съдържащ предварително затоплената, суплементирана с протеин MHM среда за всяка група от ембриони.
3. Поставете 1,0 ml от предварително затоплената, суплементирана с протеин MHM среда в ямката на стерилния съд с една ямка.
4. Поставете съда за промиване върху затоплена платформа.
5. Промийте ембрионите в съда, като хванете ембрионите 2 – 3 пъти и ги раздвижете в минимален обем предварително затоплена, суплементирана с протеин MHM среда в ямката.
6. След промиване ембрионите са готови за прехвърляне в пациента.

За допълнителни подробности относно използването на MHM всяка лаборатория трябва да направи справка със своите собствени лабораторни процедури и протоколи, които са конкретно разработени и оптимизирани за Вашата индивидуална медицинска програма.

ИНСТРУКЦИИ ЗА СЪХРАНЕНИЕ И СТАБИЛНОСТ

Съхранявайте неотворените бутилки охладени при температура от 2° C до 8° C.

Не замразявайте и не излагайте на температури, по-високи от 39° C.

Годност след отваряне на бутилката:

Продуктът трябва да се използва в рамките на пет (5) седмици след отварянето, когато се съхранява при препоръчаните условия на температура от 2° C до 8° C.

ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ И ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

Това изделие е предназначено за използване от персонал, обучен в процедурите за асистирана репродукция. Тези процедури включват планираното приложение, за което това изделие е предназначено. Това изделие не е предназначено за използване в процедура за промиване на яйчникови фоликули. Тази среда не е предназначена за използване в процедури за промиване на ооцити.

Учреждението на потребителя на това изделие носи отговорност за поддържане на проследяемостта на продукта и трябва да спазва националните разпоредби относно проследяемостта, когато е приложимо.

Не използвайте бутилка със среда, която показва признаци на наличие на твърди частици или помътняване.

MHM трябва да бъде плътно затворена, когато се използва в CO₂ инкубатор, за да се избегне pH ниво 7,0 или по-ниско.

За да избегнете проблеми, свързани със замърсяване, работете чрез асептични методи и изхвърляйте всякояко излишно количество среда, която показва признаци на замърсяване след отваряне.

ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ

Продуктът съдържа гентамицин сулфат. Трябва да се предприемат необходимите предпазни мерки, за да се гарантира, че пациентът не е сенсibiliзиран към този антибиотик.

HRVATSKI

UPOZORENJE ZA EU: samo za profesionalnu upotrebu.

INDIKACIJE ZA UPOTREBU

MHM s gentamicinsulfatom namijenjen je za upotrebu u postupcima potpomognute oplodnje koji uključuju rukovanje ljudskim gametama ili zamecima. Konkretno, MHM je indiciran za upotrebu kao medij za prikupljanje oocita tijekom postupaka aspiracije folikula jajnika (ne za ispiranje folikula jajnika), ispiranje sjemena prije postupaka oplodnje IVF-om i ICSI-jem te prijenos zametka u maternicu tijekom postupaka prijenosa zametka.

OPIS PROIZVODA

MHM je otopina s dva pufera (HEPES i MOPS) koja pruža sigurnu okolinu u kojoj se može održati vijabilnost gameta i zametaka tijekom rukovanja u okolišnim uvjetima. Ovo je svestrana otopina za pripremu sjemena metodom isplivavanja, ispiranje sjemena, prikupljanje i ispiranje oocita, IUI, ICSI i prijenos zametaka. Ovom proizvodu potreban je proteinski dodatak. MHM sadrži 10 µg/ml antibiotika gentamicinsulfat.

OSIGURANJE KVALITETE

MHM je medij za rukovanje koji je membranski filtriran i aseptički obrađen u skladu s postupcima proizvodnje za koje je potvrđeno da su u skladu s razinom osiguranja sterilnosti (SAL) koja iznosi 10⁻³.

Svaka proizvodna serija MHM-a testira se na:

endotoksine primjenom metode Limulus amebocitni lizat (LAL) ($\leq 0,25$ EU/ml)
biokompatibilnost primjenom analize mišjeg zametka (jednostaničnog pri ekspanziji blastociste ≥ 80 % nakon 96 sati)
sterilnost primjenom važećeg testa sterilnosti u skladu s Farmakopejom Sjedinjenih Američkih Država, USP <71> analizu preživljenja ljudskog sjemena (HSSA) (pokretljivost ≥ 70 % nakon 24 sata).

Svi rezultati navedeni su na Potvrdi o analizi svake proizvodne serije, a ta je potvrda dostupna na zahtjev.

SASTAV:

Soli i ioni	pH indikator
Natrijev klorid	Fenol crveno
Kalijev klorid	
Magnezijev sulfat	Pufer
Kalijev fosfat	Natrijev hidrogenkarbonat
Kalcijev klorid	HEPES
	MOPS
Aminokiseline	Energetski supstrat
Glicin	Natrijev laktat
Taurin	Glukoza
Antibiotik	Natrijev piruvat
Gentamicinsulfat	
	Voda
	Kvaliteta u skladu s propisanim za vodu za injekcije

PUFERSKI SUSTAV

MHM se koristi puferskim sustavom koji se sastoji od kombinacije HEPES-a (N-2-hidroksietilpiperazin-N'-2-etansulfonske kiseline), MOPS-a (3-morfolinopropan-1-sulfonske kiseline) i natrijevog hidrogenkarbonata. Ovaj puferski sustav omogućuje održavanje pH vrijednosti u fiziološkom rasponu (7,2 do 7,4) i ne iskušuje upotrebu CO₂ inkubatora.

DODAVANJE PROTEINA

MHM ne sadrži proteinske komponente. Količina dodanog proteina može varirati od laboratorija do laboratorija, a ovisi o fazi obrade/uzgoja gameta i zametaka. Više informacija potražite u protokolima svojeg laboratorija.

U nastavku su navedene preporuke za dodavanje proteina na temelju indikacija za upotrebu MHM-a:

Za ispiranje sjemena:

kada upotrebljavate otopinu humanog serumskog albumina (HSA) od 100 mg/ml koju proizvodi društvo FUJIFILM Irvine Scientific Inc., potrebno ju je upotrebljavati u konačnoj koncentraciji od 5 mg/ml. Kako biste dobili 10 ml medija, dodajte 0,5 ml otopine HSA-e u 9,5 ml medija. Kada upotrebljavate otopinu proteina Serum Substitute Supplement (SSS) od 50 mg/ml koju proizvodi društvo FUJIFILM Irvine Scientific Inc., potrebno ju je upotrebljavati u volumenu od 10 % (v/v). Kako biste dobili 10 ml medija, dodajte 1,0 ml SSS-a u 9,0 ml medija.

Za prikupljanje oocita:

kada upotrebljavate otopinu HSA-e od 100 mg/ml, upotrebljavajte je u konačnoj koncentraciji od 5 mg/ml. Kako biste dobili 10 ml medija, dodajte 0,5 ml otopine HSA-e u 9,5 ml medija. Kada upotrebljavate otopinu proteina SSS od 50 mg/ml, upotrebljavajte je u volumenu od 10 % (v/v). Kako biste dobili 10 ml medija, dodajte 1,0 ml SSS-a u 9,0 ml medija.

Za prijenos zametka:

kada upotrebljavate otopinu HSA-e od 100 mg/ml, upotrebljavajte je u konačnoj koncentraciji od 30 mg/ml. Kako biste dobili 10 ml medija, dodajte 3,0 ml otopine HSA-e u 7,0 ml medija. Kada upotrebljavate otopinu proteina SSS od 50 mg/ml, upotrebljavajte je u volumenu od 50 % (v/v). Kako biste dobili 10 ml medija, dodajte 5,0 ml SSS-a u 5,0 ml medija.

UPUTE ZA UPOTREBU

U nastavku su navedeni opći postupci za one upotrebe za koje je MHM indiciran.

Ispranje sjemena:

opći postupak za ispiranje sjemena iz sjemenske tekućine koja ga okružuje sastoji se od sljedećih koraka:

- Omogućiti mediju da postigne sobnu temperaturu ili 37 °C.
- Omogućiti sjemenu da prijeđe u tekući oblik pri sobnoj temperaturi tijekom 20 do 30 minuta.
- Primjenom aseptičkih metoda prenijeti tekuće sjeme u sterilnu epruvetu od 10 ml s konusnim dnom za centrifugu i dodati 2 do 3 volumena MHM-a na sobnoj temperaturi (na primjer, za uzorak sjemena od 2 ml potrebno je 4 do 6 ml medija). Ako je volumen mješavine sjemena i medija veći od 5 ml, raspodijeliti u dvije sterilne epruvete s konusnim dnom za centrifugu. Svođenjem volumena po epruveti na minimum od 4 – 6 ml omogućuje se maksimalno prikupljanje sjemena. Uzorke visoke viskoznosti možda će trebati dodatno obraditi kako bi se prikupilo cjelokupno sjeme. (Vidjeti odjeljak s posebnim napomenama za obradu.)
- Centrifugirati epruvete na okolišnoj temperaturi 10 minuta primjenom g-sile od 200 – 300 g.
- Koristeći se sterilnom pipetom aspiracijom ukloniti i odložiti supernatant koji se nalazi iznad taloga sjemena. Zatim nježno lupkati vanjsku stranu epruvete kažiprstom kako bi se obnovila suspenzija sjemena. (Napomena: za ovaj korak nemojte se koristiti vrložnom miješalicom.) Obnoviti suspenziju sjemena s 1 do 2 ml svježeg medija, ponovno začepiti i nježno miješati prevrtanjem. Uzorke koji su frakcionirani za prvi korak centrifuge sada je potrebno rekombinirati u jednu epruvetu.
- Ponovno centrifugirati kako je navedeno u 4. koraku.
- Sterilnom pipetom ukloniti i odložiti supernatant te obnoviti suspenziju taloga sjemena nježno mučkajući epruvetu rukom. Dodati svježi medij kako bi se postigao konačan volumen od 0,5 ml. Sjeme je spremno za postupke potpomognute oplodnje. (Napomena: ukupan volumen negravidne maternice jest 15 – 56 ml.)

POSEBNE NAPOMENE ZA OBRADU

Obrada uzorka sjemena visoke viskoznosti:

neki uzorci prirodno su visoke viskoznosti čak i nakon likvefakcije. Konzistencija tih uzoraka nalikuje gustom sirupu i takve je uzorke najteže obraditi.

- Nakon dodavanja medija u ejakulat, nježno aspirirati i izbacivati mješavinu koristeći se iglom promjera 18 G i štrcaljkom. To će donekle „razrezati“ viskoznu sluz.
- Za prvi korak centrifugiranja ograničiti količinu mješavine medij–sjeme dobivenu 1. korakom na 5 ml po epruveti za centrifugu.
- Ako se nakon obrade uzorka iglom i štrcaljkom (1. korak) sjeme ne taloži na normalan način (sjeme nalikuje na zamučena vlakna na dnu epruvete za centrifugu), sterilnom iglom i štrcaljkom pažljivo aspirirati supernatant u najvećoj mogućoj mjeri koja neće poremetiti zamučena vlakna sjemena. To se može postići čvrsto pridržavajući zakašeni vrh igle uz stijenku epruvete za centrifugu i polako aspirirajući od vrha epruvete prema dolje. Nakon što je supernatant uklonjen u najvećoj mogućoj mjeri, dodati 2 ili 3 ml svježeg medija. Ponoviti postupak povlačenja mješavine kroz iglu promjera 18 G i štrcaljku. Ponovno centrifugirati mješavinu. Nakon druge obrade sjeme bi se trebalo normalno taložiti.
- Za daljnja prikupljanja uzoraka od pacijenta se mora zatražiti da odvojeno prikupi prve kapi i ostatak ejakulata. Time će se viskozitet dijela uzorka koji je bogat spermijima smanjiti na minimum.

Prikupljanje oocita (ne za ispiranje folikula jajnika):

MHM-u se može dodati heparin (2,5 – 10 jedinica/ml) provjerene farmaceutske kvalitete kako bi se smanjilo zgrušavanje folikularnih aspirata koji sadrže krv.

- Omogućiti mediju kojem je dodan protein da postigne sobnu temperaturu ili 37 °C.
- Prikupljene folikularne aspirate prenijeti u praznu, sterilnu zdjelicu.
- Pronaći oocite i ukloniti ih iz folikularne tekućine i moguće kontaminacije krvlju koristeći se sterilnim pipetama koje su prethodno isprane MHM-om kojem je dodan protein.
- Isprati oocite u zagrijanom MHM-u kojem je dodan protein.
- Staviti oocite u uravnotežen medij za kulturu za daljnje rukovanje.

Prijenos zametaka:

prijenos zametaka iz medija za kulturu 3. ili 5. dan:

- Treći ili peti dan nakon procjene razvoja zametaka omogućiti mediju kojem je dodan protein da postigne sobnu temperaturu ili 37 °C.
- Za svaki skup zametaka pripremiti po jednu sterilnu zdjelicu za ispiranje koja sadrži prethodno zagrijan MHM kojem je dodan protein.
- Staviti 1,0 ml prethodno zagrijanog MHM-a kojem je dodan protein u jažicu sterilne zdjelice s 1 jažicom.
- Staviti zdjelicu za ispiranje na grijano postolje.
- Isprati zemetke u zdjelici za ispiranje podižući zemetke 2 – 3 puta i pomičući ih u jažici u minimalnom volumenu prethodno zagrijanog MHM-a kojem je dodan protein.
- Nakon ispiranja zameci su spremni za prijenos u pacijenticu.

Dodatne pojedinosti o upotrebi MHM-a svaki laboratorij treba potražiti u svojim laboratorijskim postupcima i protokolima koji su posebno razvijeni i optimirani za medicinski program upravo tog laboratorija.

UPUTE ZA POHRANU I STABILNOST

Neotvorene boce čuvati u hladnjaku na temperaturi od 2 °C do 8 °C.

Ne zamrzavati ni izlagati temperaturama većim od 39 °C.

Rok valjanosti nakon otvaranja boce:

proizvod se mora iskoristiti u roku od pet (5) tjedana od otvaranja kada ga se čuva u preporučenim uvjetima na 2 °C do 8 °C.

MJERE OPREZA I UPOZORENJA

Predviđeno je da se ovim proizvodom koristi osoblje koje je osposobljeno za postupke potpomognute oplodnje. Ti postupci uključuju primjenu za koju je namijenjen ovaj proizvod. Ovaj proizvod nije namijenjen za upotrebu u postupku ispiranja folikula jajnika. Ovaj medij nije namijenjen za upotrebu u postupcima ispiranja oocita.

Ustanova u kojoj se upotrebljava ovaj proizvod odgovorna je za osiguravanje sljedivosti proizvoda i mora postupati u skladu s nacionalnim propisima o sljedivosti, kada je to primjenjivo.

Ne upotrebljavati niti jednu bocu medija u kojoj je vidljiva prisutnost čestične tvari ili zamućenja.

MHM mora biti u čvrsto začepljenoj posudi kada ga se upotrebljava u CO₂ inkubatoru kako se ne bi postigla razina pH od 7,0 ili manja.

Da ne bi došlo do problema povezanih s kontaminacijom, proizvodom se mora rukovati primjenom aseptičkih metoda, a sav višak medija koji ostane u boci ili bočici nakon završetka postupka potrebno je odložiti.

KONTRAINDIKACIJA

Proizvod sadrži gentamicinsulfat. Potrebno je poduzeti odgovarajuće mjere opreza kako bi se osiguralo da pacijent nije osjetljiv na ovaj antibiotik.

MALTI

TWISSIJA GHALL-UE: Ghal Użu Profjazzjonali Biss

INDIKAZZJONI GHALL-UŻU

MHM b'Gentamicin Sulfatehuwa maħsub għall-użu fi proċeduri ta' riproduzzjoni assistita li jinvolvu l-manipulazzjoni ta' gameti jew embrjuni. B'mod speċifiku, MHM huwa indikat għall-użu bħala midjum għall-irkupru tal-oociti matul proċeduri ta' aspirazzjoni tal-follikolu ovariku (mhux għall-ifflassxjar tal-follikoli ovariči), il-ħasil tas-sperma qabel il-proċeduri ta' fertillizzazzjoni IVF u ICSI, u għat-trasport tal-embrijun għal ġol-utru matul il-proċeduri tas-trasferiment tal-embrijun.

DESKRIZZJONI TAL-APPARAT

MHM huwa soluzzjoni b'żewġ bafers (HEPES u MOPS) li jipprovi ambjent protett u sikur sabiex tinżamm il-vijabbiltà tal-gameti u l-embrijuni matul il-manipulazzjonijiet taħt kundizzjonijiet ambjentali. Huwa soluzzjoni versatili għall-preparazzjoni ta' swim-up tal-isperma, għall-ħasil tal-isperma, l-irkupru u t-tlaħiħ tal-oociti, IUI, ICSI u t-trasferiment tal-embrijuni. Il-prodott jeħtieġ is-suppimentazzjoni bil-proteini. MHM fiħ 10 µg/mL tal-antibijotiku Gentamicin Sulfate.

ASSIGURAZZJONI TAL-KWALITÀ

MHM huwa midjum ta' mmanigġjar li huwa mgħoddi minn filtru ta' membrana u pproċessat b'mod asettiku b'konformità ma' proċeduri ta' produzzjoni li ġew ivalidati sabiex jilhq u livell ta' assigurazzjoni ta' sterilità (SAL) ta' 10⁻³.

Kull lott ta' MHM huwa ttestjat għal:

Endotossini permezz tal-metodoloġija Limulus Amebocyte Lysate (LAL) (≤ 0.25 EU/mL)

Bijokompatibbiltà permezz tal-Assaġġ tal-Embrijuni tal-Grieden (ċellola waħda bi ≥80% blastocisti estżi wara 96 siegħa).

Steriltà permezz tat-Test ta' Steriltà attwali tal-USP <71> Assaġġ tas-Sopravivenza ta' Sperm Uman (HSSA) (≥70% motilità wara 24 siegħa).

Ir-riżultati kollha jiġu rrapportati fuq Ċertifikat ta' Analizi speċifiku għal-lott li huwa disponibbli jekk wiehed jittlob għalih.

KOMPOŻIZZJONI:

Imluħa u Joni	Indikatur tal-pH
Sodium Chloride	Phenol Red
Potassium Chloride	
Magnesium Sulfate	Bafer
Potassium Phosphate	Sodium Bicarbonate
Calcium Chloride	HEPES
	MOPS
Aċidi Aminici	Substrat tal-Energija
Glycine	Sodium Lactate
Taurine	Glucose
Antibijotiku	Sodium Pyruvate
Gentamicin Sulfate	
	Ilma
	Kwalità tal-WFI
	(Ilma għall-Injezzjonijiet)

SISTEMA TA' BAFER

MHM juża sistema ta' bafering magħmula minn kombinament ta' HEPES (N-2-Hydroxyethylpiperazine-N'-2-ethanesulfonic acid), MOPS(3 Morpholinopropane-1-sulfonic acid) u Sodium Bicarbonate. Din is-sistema ta' bafering tipprovdi l-manutenzjoni tal-pH fuq il-firxa fiżjoloġika (7.2 sa 7.4) u ma teħtieġx l-użu ta' inkubatur tal-CO₂.

SUPLIMENTAZZJONI BIL-PROTEINI

MHM ma fiħ komponenti ta' proteini. L-ammont ta' suppimentazzjoni bil-proteini jista' jvarja bejn laboratorji differenti u jiddependi fuq il-fażi tal-iproċessar/ tkabbir tal-gameti u l-embrijuni. Ikkonsulta l-protokoll tal-laboratorju individwali tiegħek.

Dawn li ġejjin huma rakkomandazzjonijiet għas-suppimentazzjoni bil-proteini abbażi tal-indikazzjonijiet għall-użu tal-MHM:

Għall-ħasil tal-Isperma:

Meta tkun qiegħda tintuża FUJIFILM Irvine Scientific Inc. Human Serum Albumin (HSA) soluzzjoni ta' 100 mg/mL uża f'konċentrazzjoni ta' 5 mg/mL. Għal 10 mL tal-midjum, žid 0.5 mL ta' soluzzjoni ta' HSA ma' 9.5 mL tal-midjum. Meta tkun qiegħda tintuża FUJIFILM Irvine Scientific, Inc. Serum Substitute Supplement (SSS), soluzzjoni ta' proteini ta' 50 mg/mL, uża f'konċentrazzjoni ta' 10% (v/v). Għal 10 mL medium, žid 1.0 mL SSS ma' 9.0 mL tal-midjum.

Għall-irkupru ta' Oociti:

Meta tkun qiegħda tintuża HSA, soluzzjoni ta' 100 mg/mL, uża konċentrazzjoni ta' 5 mg/mL. Għal 10 mL tal-midjum, žid 0.5 mL ta' soluzzjoni ta' HSA ma' 9.5 mL tal-midjum. Meta tkun qiegħda tintuża SSS, soluzzjoni ta' proteini, uża konċentrazzjoni ta' 10% (v/v). Għal 10 mL midjum, žid 1.0 mL SSS ma' 9.0 mL tal-medium.

Għat-Trasferiment tal-Embrijuni:

Meta tkun qiegħda tintuża HSA, soluzzjoni ta' 100 mg/mL, uża konċentrazzjoni ta' 30 mg/mL. Għal 10 mL tal-midjum, žid 3.0 mL ta' soluzzjoni ta' HSA ma' 7.0mL tal-midjum. Meta tkun qiegħda tintuża SSS, soluzzjoni ta' proteini ta' 50 mg/mL, uża f'konċentrazzjoni ta' 50% (v/v). Għal 10 mL tal-midjum, žid 5.0 mL SSS ma' 5.0 mL tal-medium.

ISTRUZZJONIJIET DWAR L-UŻU

Dawn li ġejjin huma l-proċeduri ġenerali għall-indikazzjonijiet tal-użu ta' MHM.

ħasil tal-Isperma:

Il-proċedura ġenerali għall-ħasil tal-isperma mill-fluwidu seminali ta' madwarha tinkludi:

- Ġib il-midjum għat-temperatura ambjentali jew 37°C.
- ħalli li s-semen jsir likwidu f' temperatura ambjentali għal 20 jew 30 minuta.
- Filwaqt li jintużaw teknici asettici, ittrasferixxi s-semen ilikwifikat għal tubu ċentrifugali, konikali, u sterili, b'volum ta' 10 mL u žid minn 2 sa 3 volumi ta' MHM f' temperatura ambjentali (pereżempju, kampjun ta' 2 mL ta' semen jeħtieġ 4 sa 6 mL ta' midjum). Jekk il-volum tat-taħlita tal-midjum tal-isperma ikun iktar minn 5 mL, qassam f'żewġ tubi konikali sterili taċ-ċentrifugu, u bit-tnaqqis tal-volum ta' kull tubu għal 4-6 mL, l-irkupru tal-isperma jiġi massimizzat. Kampjuni b'viskożità għolja jistgħu jkunu jeħtieġu iktar iproċessar sabiex jiġi żgurat l-irkupru totali tal-isperma. (Ara t-taqsimma tal-Kunsiderazzjonijiet ta' Proċessar Speċjali).
- Iċċentrifuga l-tubi f' temperatura ambjentali għal 10 minuti bl-użu ta' forza-G ta' 200-300 x g.
- Permezz ta' pipetta sterili, neħhi u warrab is-supernatant fuq il-gerbuba tal-isperma bil-proċess ta' aspirazzjoni. L-isperma mbagħad għandha terġa' tiġi sospiża mill-ġdid b'taptipa fuq barra tat-tubu bl-ewwel saba'. (Nota: M'għandekx tuża vortex mixer għal dan il-pass). Erġa' ssuspendi l-isperma f1 sa 2 mL ta' midjum frisk, erġa' aghlaq it-tapp u hawwad bil-mod permezz ta' inverżjoni. Kampjuni li kienu ffrazzjonati għall-ewwel pass taċ-ċentrifugazzjoni issa għandhom jergħu jingabru f'tubu wiehed.
- Erġa' ċċentrifuga bħal f'Pass 4.
- Permezz ta' pipetta sterili, neħhi u warrab is-supernatant u erġa' ssuspendi l-gerbuba tal-isperma bil-mod permezz ta' aġitazzjoni manwali. Žid midjum frisk sa volum finali ta' 0.5 mL. L-isperma hija lesta għall-proċeduri ta' riproduzzjoni assistita. (Nota: Il-volum totali ta' utru bla wild huwa 15-56 mL).

KUNSIDERAZZJONIJIET TA' PROĊESSAR SPEĊJALI

L-iproċessar tal-kampjun ta' semen viskuż hafna:

Xi kampjuni jkunu b'mod naturali viskużi hafna anke wara l-likwifikazzjoni. Dawn il-kampjuni għandhom il-konsistenza ta' ġulepp tqil u jistgħu jkunu fost l-iktar diffiċli biex jiġu pproċessati.

- Wara li l-midjum jįzdied ma' egakulat, aspira u neħhi t-taħlita bil-mod permezz ta' labra u siringa tad-daqs 18 gejġ. Dan għandu "kisser" fit mil-mukus viskuż.

- Illimita l-ammont tat-taħlita tal-midjum u l-isperma mill-Punt 1 għal 5 mL f'kull tubu taċ-ċentrifugu għall-ewwel pass taċ-ċentrifugazzjoni.

- Jekk wara l-iproċessar ta' qabel tal-kampjun bil-labra u s-siringa (Punt 1), l-isperma ma tiffurmax "gerbuba" b'mod normali (is-sperma tidher bħala "fibra mdardra" mwahħha mal-qieġ tat-tubu taċ-ċentrifugu), bil-modaspira kemm tista' mis-supernatant mingħajr ma' ċċaqlaq "il-fibra tas-sperma mdardra" permezz ta' labra u siringa sterili. Dan jista' jsir billi t-tarf mċanfar tal-labra jinżamm b'mod sod mal-ġenb tat-tubu taċ-ċentrifugu u bil-mod tinbeda l-aspirazzjoni min-naħa ta' fuq tat-tubu l' isfel. Meta jkun tneħħa kemm jista' jkun mis-supernatant, žid 2 jew 3 mL ta' midjum frisk. Irrepeti l-proċess tal-ġbid tat-taħlita minn ġol-labra u s-siringa tad-daqs 18 gejġ. Erġa' ċċentrifuga t-taħlita mill-ġdid. L-Isperma għandha tifforma gerbuba b'mod normali wara t-tieni pproċessar.

- Fil-ġbir li jmiss tal-kampjuni, il-pazjent għandu jiġi mitlub biex jiproduci egakulat maqsum li għandu jnaqqas il-viskożità tal-porzjon tal-kampjun li l-iktar fiħ sperma.

L-Irkupru tal-Oociti (mhux għall-ifflassxjar tal-follikoli ovariči):

MHM jista' jiġi ssupplimentat b'heparin ta' grad farmaċewtiku ttestjat għall-kwalità (2.5-10 unitajiet/mL) sabiex titnaqqas il-koagulazzjoni ta' aspirati follikulari li finhom xi demm.

- Ġib il-midjum għat-temperatura ambjentali jew 37°C.
- L-aspirati follikolari miġbura għandhom jiġu trasferiti ġox dixx sterili vojti.
- Identifika l-oociti u neħhihom mill-fluwidu follikolari u xi kontaminazzjoni li jista' jkun hemm bid-demm permezz ta' pipetti sterili mlaħħa minn qabel u ssupplimentati b'MHM.
- Lahlah l-oociti f'MHM imsaħħan u ssupplimentat.
- Poġġi l-oociti f'midjum tat-tkabbir ekwilibrat għal immanigġjar ulterjuri.

Trasferiment tal-Embrijuni:

Ittrasferixxi l-embrijuni mill-midjum tat-tkabbir fit-3 jum jew il-5 jum.

- Fit-3 jum jew il-5 jum wara l-valutazzjoni tal-embrijuni għall-iżvilupp, ġib il-midjum issupplimentat bil-proteini għaltemperatura ambjentali jew 37°C.
- filprepara dixx wiehed tal-ħasil, sterili, li fiħ MHM imsaħħan minn qabel u ssupplimentat bil-proteini għal kull sett ta' embrijuni.
- Poġġi 1.0 mL tal-MHM imsaħħan minn qabel u ssupplimentat bil-proteini fil-kavità ta' dixx sterili b'kavità waħda (1).
- Poġġi d-dixx tal-ħasil fuq pjaġtaforma msahħna.
- Aħsel l-embrijuni fid-dixx tal-ħasil billi tiġborl-embrijuni 2-3 darbiet u ddawwarhom f'volum minimu tal- MHM imsaħħan minn qabel u ssupplimentat bil-proteini li hemm fil-kavità.
- Wara l-ħasil l-embrijuni jkunu lesti sabiex jiġu ttrasferiti fil-pazjent.

Għal dettalji addizzjonali dwar l-użu ta' MHM, kull laboratorju għandu jikkonsulta l-proċeduri u l-protokoll tal-laboratorju tiegħu stess li ġew żviluppatti u ottimizzati speċifikament għall-programm mediku individwali tiegħek.

ISTRUZZJONIJIET DWAR IL-ħAŻNA U L-ISTABBILTÀ

Aħżen il-flixken mhux miftuħa fil-frigġ f' temperatura ta' bejn 2° u 8°C.

Tiffriżax u tesponiex għal temperaturi ta' iktar minn 39°C.

Tul ta' Żmien Wara Li Jinfetaħ il-Flixxun: Il-prodott għandu jintuża fi żmien (5) ġimghat wara li jinfetaħ meta jinżamm fil-kundizzjonijiet irrakkomandati ta' bejn 2° u 8°C.

PREKAWZJONIJIET U TWISSIJIET

Dan l-apparat huwa maħsub għall-użu minn persunal imħarregġ fi proċeduri ta' riproduzzjoni assistita. Dawn il-proċeduri jinkludu l-applikazzjoni indikata li għaliha huwa maħsub dan l-apparat. Dan l-apparat m'għandux jintuża fil-proċedura tal-ifflassxjar tal-follikoli ovariči. Dan il-midjum m'għandux jintuża fil-proċeduri tal-ifflassxjar tal-oociti.

Il-faċilità li-tagħmel użu minn dan l-apparat hija responabbli biex iżzomm it-traċċabbiltà tal-prodott u għandha tikkonforma mar-regolamenti nazzjonali li jikkonċernaw il-traċċabbiltà, fejn hu applikabbli.

M'għandek tuża l-ebda flixkun ta' midjum li juri evidenza ta materja partikulata jew li huwa mdardar.

MHM għandu jkun magħluq sew meta jkun użat f'inkubatur tal-CO₂ sabiex jiġu evitati livelli tal-pH ta' 7.0 jew inqas.

Sabiex jiġu evitati problemi ta' kontaminazzjoni, għandhom jintużaw teknici asettici u warrab kwalunkwe midjum zejjed li jibqa' fil-flixxun jew kunjett wara li tintemm il-proċedura.

KONTRAIKAZZJONI

Il-prodott fiħ Gentamicin Sulfate. Għandhom jittieħdu l-prekawzjonijiet xierqa sabiex jiġi żgurat li l-pazjent mhuxwix sensitizzat għal dan l-antibijotiku.

SLOVENŠČINA

OPOZORILO ZA EU: Samo za profesionalno uporabo

INDIKACIJE ZA UPORABO

Medij MHM z gentamicinijevim sulfatom je namenjen za uporabo v postopkih asistirane reprodukcije, ki vključujejo manipulacijo gamet ali embrijev. Natančneje je medij MHM indiciran za uporabo kot medij za obnovitev oocitov med postopki aspiracije jajčnih foliklov (ne za spiranje jajčnih foliklov), spiranje semenčic pred oploditvijo s postopki IVF in ICSI ter za prenos embrija v maternico med postopki prenosa embrijev.

OPIS PRIPOMOČKA

Medij MHM je dvojno pufrana raztopina (HEPES in MOPS), ki zagotavlja varno okolje za ohranjanje sposobnosti preživetja gamet in embrijev med ravnanjem z njimi pri okoljskih pogojih. Ta večnamenska raztopina se uporablja za pripravo splavanja semenčic na površje, spiranje semenčic, obnovitev in spiranje oocitov, intrauterino osemenitev (IUI), intracitoplazemsko injiciranje semenčic (ICSI) in prenos embrijev. Izdelku je treba dodati beljakovine. Medij MHM vsebuje 10 µg/ml antibiotika gentamicinijevga sulfata.

ZAGOTAVLJANJE KAKOVOSTI

MHM je medij za ravnanje, ki je membransko filtriran in aseptično obdelan skladno z validiranimi proizvodnimi postopki za zagotavljanje stopnje sterilnosti (SAL) 10⁻³.

Vsaka serija medija MHM je testirana glede: prisotnosti endotoksinov z metodologijo LAL (Limulus Amebocyte Lysate) (≤ 0,25 EU/ml), biokompatibilnosti s testom z mišjimi embriji (enoceličnimi; ≥ 80 % razprta blastocista po 96 urah), sterilnosti s trenutnim testom USP za sterilnost <71>, preživetja humanih semenčic (HSSA; ≥ 70 % gibljivosti po 24 urah).

Vsi rezultati so navedeni na analiznem certifikatu za vsako serijo, ki je na voljo na zahtevo.

SESTAVA:

Soli in ioni	Indikator vrednosti pH
Natrijev klorid	Fenol rdeče
Kalijev klorid	
Magnezijev sulfat	Pufer
Kalijev fosfat	Natrijev bikarbonat
Kalcijev klorid	HEPES
	MOPS
Aminokisliline	Energijski substrat
Glicin	Natrijev laktat
Tavrin	Glukoza
Antibiotik	Natrijev piruvat
Gentamicinijev sulfat	
	Voda
	Kakovost, ki ustreza vodi za injekcije

PUFRSKI SISTEM

Medij MHM uporablja pufrski sistem, sestavljen iz kombinacije pufov HEPES (N-2-hidroksietilpiperazin-N'-2-etansulfonska kislina) in MOPS (3-morfolinopropan-1-sulfonska kislina) ter natrijevega bikarbonata. Ta pufrski sistem zagotavlja vzdrževanje vrednosti pH v fiziološkem območju (od 7,2 do 7,4) in ne zahteva uporabe CO₂-inkubatorja.

DODAJANJE BELJAKOVIN

MHM ne vsebuje beljakovinskih komponent. Količina dodanih beljakovin se lahko med laboratoriji razlikuje in je odvisna od faze obdelave/gojenja gamet in embrijev. Upoštevajte protokole, ki se uporabljajo v vašem laboratoriju.

V nadaljevanju so priporočila za dodajanje beljakovin glede na indikacije za uporabo medija MHM:

Za spiranje semenčic:

Pri uporabi humanega serumskega albumina (HSA) proizvajalca FUJIFILM Irvine Scientific Inc., ki je raztopina s koncentracijo 100 mg/ml, uporabite koncentracijo 5 mg/ml. Za 10 ml medija dodajte 0,5 ml raztopine HSA v 9,5 ml medija. Pri uporabi izdelka Serum Substitute Supplement (SSS) proizvajalca FUJIFILM Irvine Scientific, Inc., ki je raztopina beljakovin s koncentracijo 50 mg/ml, uporabite 10-odstotno koncentracijo (v/v). Za 10 ml medija dodajte 1,0 ml raztopine SSS v 9,0 ml medija.

Za odvzem oocitov:

Pri uporabi HSA, ki je raztopina s koncentracijo 100 mg/ml, uporabite koncentracijo 5 mg/ml. Za 10 ml medija dodajte 0,5 ml raztopine HSA v 9,5 ml medija. Pri uporabi SSS, ki je raztopina beljakovin s koncentracijo 50 mg/ml, uporabite 10-odstotno koncentracijo (v/v). Za 10 ml medija dodajte 1,0 ml raztopine SSS v 9,0 ml medija.

Za prenos embrijev:

Pri uporabi HSA, ki je raztopina s koncentracijo 100 mg/ml, uporabite koncentracijo 30 mg/ml. Za 10 ml medija dodajte 3,0 ml raztopine HSA v 7,0 ml medija. Pri uporabi SSS, ki je raztopina beljakovin s koncentracijo 50 mg/ml, uporabite 50-odstotno koncentracijo (v/v). Za 10 ml medija dodajte 5,0 ml raztopine SSS v 5,0 ml medija.

NAVODILA ZA UPORABO

V nadaljevanju so opisani splošni postopki glede na indikacije za uporabo medija MHM.

Spiranje semenčic:

Splošni postopek spiranja semenčic iz okoliške semenske tekočine vključuje:

- Poskrbite, da se medij ogreje na sobno temperaturo ali 37 °C.
- Počakajte od 20 do 30 minut, da se sperma utekočini pri sobni temperaturi.
- Z aseptično tehniko prenesite utekočinjeno spermo v sterilno 10 ml konično centrifugirno epruveto in dodajte od 2- do 3-kratni volumen medija MHM, ki mora imeti sobno temperaturo (2 ml vzorcu sperme je na primer treba dodati od 4 do 6 ml medija). Če je volumen mešanice medija in sperme večji od 5 ml, ga razdelite v dve sterilni, konični, centrifugirni epruveti. Ob zmanjšanju volumna na 4–6 ml na epruveto se obnovitev sperme izboljša. Vzorce z visoko viskoznostjo bo morda treba dodatno obdelati, da se zagotovi popolna obnovitev sperme. (Glejte razdelek Posebne okoliščine, ki jih je treba upoštevati pri obdelavi.)
- Epruvete 10 minut centrifugirajte pri sobni temperaturi, pri čemer uporabite silo 200–300 x g.
- Z aspiracijo s sterilno pipeto odstranite supernatant nad »usedlino sperme« in ga zavrzite. Spermo morate nato ponovno suspendirati tako, da s kazalcem nežno frcate po zunanji strani epruvete. (Opomba: Za ta korak ne uporabite vrtničnega mešalnika.) Ponovno suspendirajte spermo v 1 do 2 ml svežega medija, zaprite pokrovček in previdno premešajte z obračanjem. Vzorce, ki so bili frakcionirani za prvi korak centrifugiranja, je treba zdaj združiti v eno epruveto.
- Ponovno centrifugirajte kot v 4. koraku.
- S sterilno pipeto odstranite in zavrzite supernatant, nato pa z ročnim stresanjem nežno ponovno suspendirajte usedlino sperme. Dodajte toliko svežega medija, da dobite končni volumen 0,5 ml. Sperma je tako pripravljena za postopke asistirane reprodukcije. (Opomba: Celotni volumen negravidne maternice je 15–56 ml.)

POSEBNE OKOLIŠČINE, KI JIH JE TREBA UPOŠTEVATI PRI OBDELAVI

Obdelava zelo viskoznega vzorca sperme:

Nekateri vzorci so naravno zelo viskozni, tudi ko so utekočinjeni. Takšni vzorci imajo konsistenco gostega sirupa in so lahko med najtežjimi za obdelavo.

- Potem ko ejakulatu dodate medij, mešanico previdno aspirirajte in iztisnite z uporabo igle 18 G in brizge. Tako boste posneli nekaj viskozne sluzi.

- Za prvi korak centrifugiranja omejite količino mešanice sperme in medija iz 1. koraka na 5 ml na centrifugirno epruveto.
- Če po predobdelavi vzorca z iglo in brizgo (1. korak) ne nastane »usedlina« sperme kot običajno (sperma bo videti kot motna vlaknasta snov, ki se drži dna centrifugirne epruvete), s sterilno iglo in brizgo previdno aspirirajte toliko supernatanta, kot je mogoče, ne da bi pri tem posegli v motno vlaknasto spermo. To lahko naredite tako, da držite prizirani rob igle trdno ob steni centrifugirne epruvete in počasi začnete aspirirati od vrha epruvete navzdol. Ko odstranite čim več supernatanta, dodajte 2 ali 3 ml svežega medija. Ponovite postopek potega mešanice skozi iglo 18 G in brizgo. Nato mešanico ponovno centrifugirajte. Po drugi obdelavi bi morala nastati normalna usedlina sperme.
- Pri naslednjih odvzemih vzorcev je treba bolniku naročiti, naj proizvede razdeljen ejakulat, kar bo zmanjšalo viskoznost v deležu vzorca, ki je bogat s semenčicami.

Obnovitev oocitov (ne za spiranje jajčnih foliklov):

Mediju MHM lahko dodate kakovosten, testiran heparin farmacevtske kakovosti (2,5–10 enot/ml), da zmanjšate strjevanje folikularnih aspiratov, ki vsebujejo kri.

- Poskrbite, da se medij z dodanimi beljakovinami ogreje na sobno temperaturo ali 37 °C.
- Odvzete folikulame aspirate prenesite v prazno sterilno posodo.
- Identificirajte oocite ter jih s sterilnimi pipetami, predhodno splaknjenimi z medijem MHM z dodanimi beljakovinami, odstranite iz folikularne tekočine in morebitne kontaminacije s krvjo.
- Oocite sperite v segretem mediju MHM z dodanimi beljakovinami.
- Oocite prenesite v uravnoteženo gojišče za nadaljnje ravnanje.

Prenos embrijev:

Prenos embrijev iz gojišča na 3. dan ali 5. dan:

- Na 3. ali 5. dan, potem ko ocenite razvoj embrijev, segrejte medij z dodanimi beljakovinami na sobno temperaturo ali 37 °C.
- Za vsak nabor embrijev pripravite po eno sterilno posodo za spiranje, ki vsebuje predhodno segret medij MHM z dodanimi beljakovinami.
- 1,0 ml predhodno segretega medija MHM z dodanimi beljakovinami prenesite v vdolbino sterilne posode z 1 vdolbino.
- Posodo za spiranje postavite na ogrevano mizico.
- Embrije sperite v posodi za spiranje tako, da jih 2- ali 3-krat dvignete in premikate okoli po čim manjši količini predhodno segretega medija MHM z dodanimi beljakovinami v vdolbini posode.
- Po spiranju so embriji pripravljene za prenos v maternico.

Dodatne podrobnosti o uporabi medija MHM določajo notranji laboratorijski postopki in protokoli vsakega laboratorija, ki so bili posebej razviti in optimizirani za zadevni medicinski program.

NAVODILA ZA SHRANJEVANJE

IN STABILNOST

Neodprte steklenice shranjujte v hladilniku pri temperaturi od 2 do 8 °C.

Ne zamrzujte in ne izpostavljajte temperaturam nad 39 °C.

Uporabnost po odprtju steklenice:

Če je izdelek shranjen pri priporočenih pogojih (od 2 do 8 °C), ga je treba porabiti v petih (5) tednih od odprtja.

PREVIDNOSTNI UKREPI IN OPOZORILO

Ta pripomoček sme uporabljati samo osebe, ki je usposobljeno za postopke asistirane reprodukcije. Ti postopki vključujejo predvideno uporabo, za katero je ta pripomoček zasnovan. Ta pripomoček ni namenjen uporabi v postopku spiranja jajčnih foliklov. Ta medij ni namenjen uporabi v postopkih spiranja oocitov.

Ustanova, v kateri dela uporabnik tega pripomočka, je odgovorna za vzdrževanje sledljivosti izdelka in mora upoštevati nacionalne predpise glede sledljivosti, kjer je to ustrezno.

Ne uporabite nobene steklenice z medijem, v kateri opazite delce ali motnost.

Če medij MHM uporabljate v CO₂-inkubatorju, mora pokrovček biti dobro zaprt, da se pH ne zniža na 7,0 ali manj.

Za preprečitev kontaminacije morate z izdelkom ravnati z aseptičnimi tehnikami in zavreči morebitni odvečni medij, ki po končanem postopku ostane v steklenici ali viali.

KONTRAINDIKACIJE

Izdelek vsebuje gentamicinijev sulfat. Izvesti je treba ustrezne previdnostne ukrepe za zagotavljanje, da bolnik ni občutljiv za ta antibiotik.