

FUJIFILM**IrvineScientific**

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.

Arvusteisiin lisäantymismenetelmiin.

Ar palgildzekļiem veicamām reproduktīvām procedūram.

Voor geassisteerde voortplantingsprocedures.

Do procedur wspomagane go rozrodu.

Pentru proceduri de reproducere asistată.

For 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 репродукција.

За поступке потпомогнуте оплодње.

Ghal proēduri ta' riproduzzjoni assistita.

За постопке асистиране 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

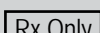
Do not resterilize



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 - Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
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:Salts and Ions

Sodium Chloride
Potassium Chloride
Magnesium Sulfate
Potassium Phosphate
Calcium Chloride

pH Indicator

Phenol Red

Buffer

Sodium Bicarbonate
HEPES
MOPS

Amino Acids

Glycine
Taurine

Energy Substrate

Sodium Lactate
Glucose
Sodium Pyruvate

Antibiotic

Gentamicin Sulfate

Water

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 7.0mL 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:

1. Bring medium to room temperature or 37°C.
2. Allow the semen to liquefy at room temperature for 20 to 30 minutes.
3. Using aseptic techniques, transfer the liquefied semen into a sterile 10 mL conical centrifuge tube add 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).
4. Centrifuge the tubes at ambient temperature for 10 minutes using a force of 200 - 300 x g.
5. Using a sterile pipette, remove and discard the supernatant above the "sperm pellet" by aspiration. The sperm should then be resuspended by gently flicking the tube externally with the index finger. (Note: Do not use a vortex mixer for this step). Resuspend the sperm in 1 to 2 mL of fresh medium, recap and gently mix by inversion Samples which were fractionated for the first centrifugation step should now be recombined into one tube.
6. Recentrifuge as in Step 4.
7. Using a sterile pipette, remove and discard the supernatant and resuspend the sperm pellet gently by manual agitation. Add fresh medium to a final volume of 0.5 mL. The sperm are ready for assisted reproductive procedures. (Note: The total volume of the nonpregnant 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.

1. After the medium is added to an ejaculate, aspirate and expel the mixture gently using an 18 gauge needle and syringe. This will "shear" some of the viscous mucous.
2. Limit the amount of medium-sperm mixture from Step 1 to 5 mL per centrifuge tube for the first centrifugation step.
3. If after preprocessing the sample with the needle and syringe (Step 1), the sperm do not "pellet" in a normal manner (the sperm will appear as a "cloudy fiber" attached to the bottom of the centrifuge tube), carefully aspirate as much of the supernatant as possible without disrupting the "cloudy sperm fiber" using a sterile needle and syringe. This can be done by keeping the beveled edge of the needle firmly against the wall of the centrifuge tube and slowly start aspiration from the top of the tube downward. When as much of the supernatant as possible has been removed, add 2 or 3 mL of fresh medium. Repeat the process of drawing the mixture through the 18 gauge needle and syringe. Recentrifuge the mixture. The sperm should pellet normally after the second processing.

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

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.

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

Embryo Transfer:

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

1. On day 3 or day 5 following assessment of embryos for development, bring protein supplemented medium to room temperature or 37°C.
2. Set up one sterile wash dish containing pre-warmed protein supplemented MHM for each set of embryos.
3. Place 1.0 mL of the pre-warmed protein supplemented MHM into the well of a sterile 1-well dish.
4. Place the wash dish onto a heated stage.
5. 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.
6. 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

© 2023 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.08

Effective Date: 31-JUL-2023

DEUTSCHEN

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 MHH zur Verwendung als Oozytenentnahmemedium bei Ovariaalfollikelaspersionsverfahren (nicht zum Spülen von Ovariaalfollikeln), 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. MHH 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-Ameobozyten-Lysat-Nachweis (LAL-Methode) (≤ 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
Kalliumchlorid	
Magnesiumsulfat	Puffer
Kaliumphosphat	Natriumbicarbonat
Calciumchlorid	HEPES
	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-ethanesulfonsäure), 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 MHH:

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 zugeben.

Für den Embryonentransfer:

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 MHH aufgeführt.

Spermawäsche:

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

- 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 MHH (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 zahflussigen 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 Ovariaalfollikeln):

MHM kann mit qualitätsgeprüftem Heparin in pharmazeutischer Qualität (2,5–10 Einheiten/ml) ergänzt werden, um die Gewinnung 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 ergäntem MHH gespülten Pipette entfernen.
- Die Oozyten in vorgewärmtem und ergäntem MHH spülen.
- Die Oozyten zur Weiterverarbeitung in ein äquibriertes Kulturmedium geben.

Embryonentransfer:

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 Waschschale mit vorgewärmtem MHH mit Proteinergänzung bereitstellen.
- 1,0 ml des vorgewärmten MHH mit Proteinergänzung in das Well einer sterilen 1-Well-Schale geben.
- Die Waschschale auf eine Heizplatte stellen.
- Die Embryonen in der Waschschale waschen, dazu die Embryos 2–3-mal aufnehmen und in einem minimalen Volumen des vorgewärmten MHH mit Proteinergänzung im Well herum bewegen.
- Nach dem Waschen sind die Embryonen für den Transfer in den Patienten bereit.

Weitere Einzelheiten zum Gebrauch von MHH 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 ungeöffneter 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 WARNHINWEISS

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 Ovariaalfollikeln geeignet. Dieses Medium ist nicht zur Verwendung bei Oozytenpulververfahren 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.

ITALIANO

AVVERTENZA PER L’UE: solo per uso professionale.

INDICAZIONI PER L’UO

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, MHH 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. E 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

MHH 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) (≤ 0,25 EU/ml);
la biocompatibilità, mediante saggio su embrioni di topo (embrioni unicellulari con ≥ 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 (≥ 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

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

SISTEMA TAMPONE

MHM utilizza un sistema tampone, costituito da una combinazione di HEPES (acido N-2-idrossietil-piperazil-N'-2-etansolfonico), MOPS (acido 3 morfolinoopropano-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 MHH.

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’UO

Le seguenti sono procedure generali basate sulle indicazioni per l’uso del terreno MHH.

Lavaggio dello sperma

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

- Portare il terreno a temperatura ambiente oppure a 37 °C.
- Lasciar liquefare il liquido seminale a temperatura ambiente per 20-30 minuti.
- Trasferire con tecnica asettica il liquido seminale liquefatto in una provetta conica sterile per centrifuga da 10 ml e aggiungere 2-3 volumi di MHH 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).
- Centrifugare le provette a temperatura ambiente per 10 minuti a 200-300 x g.
- Eliminare e smaltire, aspirandolo con una pipetta sterile, il surnatante 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.
- Ricentrifugare come al punto 4.
- Eliminare e smaltire il surnatante 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 surnatante 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 surnatante 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.

- Durante le raccolte successive di campione, al paziente deve essere chiesto di produrre separatamente le prime frazioni di liquido seminale ejacolato (“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.

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

Trasferimento dell’embrione

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

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

Per ulteriori dettagli sull’uso del terreno MHH, 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 MHH 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, mangiare usando tecniche in asepsi ed eliminare ogni eccesso di terreno rimasto nel flacone o nella fiala al termine della procedura.

CONTRAINDICAZIONI

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 manipulan 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 sobrenado, el lavado de esperma, la recuperación y lavado de ovocitos, IUU, 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)
Biotocompatibilidad 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	Sistemas tampón
Fosfato potásico	Bicarbonato sódico
Cloruro cálcico	HEPES
	MOPS
Aminoácidos	
Glicina	Sustrato energético
Taurina	Lactato sódico
	Glucosa
Antibiótico	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-hidroxietilpiperazina-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 5,0 % (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:

- Dejar que el medio alcance la temperatura ambiente o 37 °C.
- Dejar licuar el semen manteniéndolo a temperatura ambiente de 20 a 30 minutos.
- Con técnicas asepticas 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»).
- Centrifugar los tubos a temperatura ambiente durante 10 minutos aplicando una fuerza «g» de 200-300.
- 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 vortex 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.
- Volver a centrifugar como en el paso 4.
- 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.

- 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.

- 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.
- 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 turba 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.
- En sucesivas recolecciones de muestras, se deberá pedir al paciente que fracione 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 folliculares que contienen sangre.

- Dejar que el medio suplementado con proteínas alcance la temperatura ambiente o 37 °C.
- Los aspirados folliculares recolectados se deben transferir a una placa estéril vacía.
- Identificar los ovocitos y aislarlos del líquido follicular y de la posible contaminación sanguínea con pipetas estériles prelavadas con MHM suplementado.
- Lavar los ovocitos en MHM calentado y suplementado.
- 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:

- 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.
- Preparar una placa de lavado estéril que contenga el MHM precalentado y suplementado con proteínas por cada lote de embriones.
- Introducir 1,0 ml del MHM precalentado y suplementado con proteínas en el pocillo de una placa estéril con 1 solo pocillo.
- Colocar la placa de lavado en una platina calentada.
- Lavar los embriones de la placa de lavado tomando de 2 a 3 veces los embriones y moviéndolos dentro del pocillo en un volumen mínimo del MHM precalentado y suplementado con proteínas.
- 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.

Válidez después de la apertura del frasco:

Tras abrirlo, el producto se debe utilizar en un plazo de ocho (5) 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 ICS, 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 spermatozoides, la récupération et le rinçage des ovocytes, l'IU, l'ICSS 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 spermatozoides 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		
Sulfate de magnésium	Tampon	
Phosphate de potassium	Bicarbonate de sodium	
Chlorure de calcium	HEPES	
	MOPS	
Acides aminés	Substrat énergétique	
Glycine	Lactate de sodium	
Taurine	Glucose	
Antibiotique	Pyruvate de sodium	
Sulfate de gentamicine	Eau	
	Qualité WFI	

SYSTÈME TAMPON

MHM utlise 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.

SUPPLÉMENTATION 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 spermatozoides du liquide séminal les baignant :

- Préchauffer le milieu à température ambiante ou à 37 °C
- Permettre au sperme de se liquéfier à température ambiante pendant 20 à 30 minutes.
- 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 spermatozoides sera maximale. Les échantillons de sperme à viscosité élevée pourront nécessiter plus de traitement pour garantir une totale récupération des spermatozoïdes. (Cf. Conditions de traitement particulières).
- Centrifuger les tubes à température ambiante pendant 10 minutes en utilisant une force g comprise entre 200 et 300 x g.
- En utilisant une pipette stérile, aspirer le surageant 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.
- Centrifuger comme dans l'étape 4.
- En utilisant une pipette stérile, aspirer le surageant, 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

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

- 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.

- Réduire le volume du mélange sperme-milieu de l'étape 1 à 5 ml par tube pour la première centrifugation.
- 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 surageant possible sans troubler les « fibres » en utilisant une seringue et une aiguille. Pour ce faire, maintenir le biseau de l'aiguille fermement contre la pari du tube à centrifuger en aspirant lentement le surageant du haut vers le bas du tube. Après avoir éliminé le plus possible de surageant, 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.
- 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.

- Préchauffer le milieu à température ambiante ou à 37 °C.
- Les aspirats folliculaires recueillis doivent être transférés dans une boîte de Pétri stérile vide.
- 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.
- Rincer les ovocytes dans du MHM préchauffé et supplémenté.
- 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 :

- 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.
- Préparer une boîte de lavage stérile contenant du MHM supplémenté en protéines préchauffé pour chaque lot d'embryons.
- Placer 1,0 ml de MHM supplémenté en protéines préchauffé dans le puits d'une boîte à puits unique stérile.
- Placer la boîte de lavage sur une platine chauffée.
- 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.
- 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

Conserver 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 antibiologique.

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 engastamento 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 assépticamente 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 rato (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-hidroxietilpiperazina-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:

1. Deixe o meio atingir a temperatura ambiente ou 37 °C.
2. Deixe o esperma liquefazer a temperatura ambiente durante 20 a 30 minutos.
3. Utilizando técnicas assépticas, transfira o sémen 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 sémen 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).
4. Centrifugue os tubos à temperatura ambiente durante 10 minutos, selecionando uma força "g" de 200 a 300 x g.
5. 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.
6. Volte a centrifugar o tubo como no passo 4.
7. 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 sémen 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.

1. 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.
2. 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.
3. 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 liver 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.
4. 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.

1. Deixe o meio com suplemento proteico atingir a temperatura ambiente ou 37 °C.
2. Os aspirados de folículos colhidos devem ser transferidos para uma placa estéril vazia.
3. Identifique os oócitos e retire-os do líquido folicular e possível contaminação de sangue, utilizando pipetas estéreis pré-engastadas com MHM suplementado.
4. Lave os oócitos em MHM aquecido e suplementado.
5. 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:

1. 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.
2. Prepare uma placa de lavagem estéril contendo MHM com suplemento proteico pré-aquecido para cada conjunto de embriões.
3. Coloque 1,0 ml de MHM com suplemento proteico pré-aquecido no poço de uma placa de 1 poço estéril.
4. Coloque a placa de lavagem sobre uma plataforma aquecida.
5. 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.
6. 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 assépticas 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.

DANSK

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 svømmeferberedelse, 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 sterilitets-sikringsniveau (SAL) på 10^{-3} .

Hvert MHM-parti er testet for:

- Endotoxin med Limulus Amebocyte Lysate- (LAL) metoden ($\leq 0,25$ EU/ml)
- Biokompatibilitet ved analyse af museembryo (encellet $\geq 80\%$ ekspanderet blastocyst 96 t)
- Sterilitet med den aktuelle United States Pharmacopeia-test (USP) <71>
- Human Sperm Survival Assay (HSSA) ($\geq 70\%$ 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	Buffer
Magnesiumsulfat	Natriumbikarbonat
Kaliumfosfat	HEPES
Kalciumklorid	MOPS
<u>Aminosyrer</u>	<u>Energi substrat</u>
Glycin	Natriumlaktat
Taurin	Glukose
<u>Antibiotikum</u>	<u>Natriumpryruvat</u>
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) and kræver ikke brug af en CO₂-inkubator.

PROTEINTILFØRSEL

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

Følgende 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 pegefingern. (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 likvefation. 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 trævlfarvet bunden af centrifugerøret), skal så meget som muligt af supernatanten aspireres med en steril nål og sprøjte, uden at den uklare trævlfarvet sædceller ødelægges. Det kan gøres ved at holde nålespidsens skrånket 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 sædige 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 follikelpunktet, der indeholder blod.

1. Bring proteintilsat medium til stuetemperatur eller 37 °C.
2. Det udtagne follikelpunkt skal overføres til en tom, steril skal.
3. Identificer oocytterne, og fjern dem fra follikelvæsken og mulig kontamination med blod ved brug af sterile pipetter, der er forskyllet og tilsat med MHM.
4. Skyl oocytterne i opvarmet MHM med tilsætning.
5. Anbring oocytterne i et ækvlillberet 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 vaskeskal med forvarmet proteintilsat MHM til hvert sæt embryoer.
3. Anbring 1,0 ml af det forvarmede proteintilsatte MHM i brønden på en steril skal med 1 brønd.
4. Stil vaskeskalen på et opvarmet objektbord.
5. Vask embryoerne i vaskeskalen ved at tage dem op 2-3 gange og bevæge 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 uklarhed.

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.

KONTRAINDIKATION

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

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 ovariumfollikelspiraties (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 levensbaarheid 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 membraan gefilterd 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 muiseembryoassay (eencellig met ≥ 80% geëxpandeerde blastocysten na 96 uur)
- Steriliteit middels de huidige Amerikaanse Farmacopee (USP) sterilitetest <71>
- 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	<u>Buffer</u>
Magnesiumsulfaat	Natriumbicarbonaat
Kaliumfosfaat	HEPES
Calciumchloride	MOPS

<u>Aminozuren</u>	<u>Energiesubstraat</u>
Glycine	Natriumlactaat
Taurine	Glucose

<u>Antibioticum</u>	Natriumpruvaat
Gentamicinesulfaat	
	<u>Water</u>
	Farmaceutisch kwaliteitswater (WF)

BUFFERSYSTEEM

MHM bevat een buffersysteem bestaande uit een combinatie van HEPES (N-2-hydroxyethylpiperazine-N'-2-etanhaansulfonzuur), 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 zachties 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 spermamonsers:

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 voorbereiking 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 slevig 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 follikelaspiraten die bloed bevatten, te verminderen.

- Breng het met eiwit aangevulde medium op kamertemperatuur of 37 °C.
- De verzamelde follikelaspiraten 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 geëquilibreerd 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 objectafel.
- 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 speelprocedures 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 tekene van besmetting verlooft 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.

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 utämning 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, utämning och sköljning av oocyter, IUI, ICSI och embryoåterföring. Protein måste tillsättas till produkten. MHM innehåller 10 µg/ml av antibiotikat 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 joner</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>	Natriumpyruvat
Gentamicinsulfat	
	<u>Vatten</u>
	Vatten för injektion (WFI)

BUFFERTSYSTEM

I MHM används ett buffertsystem bestående av HEPES (N-2-hydroxietylpiiperazin-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 utämning 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 spermerna 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 spermavprov 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. Spermerna ska sedan resuspenderas genom att man försiktigt knapper med peklingret på rørets utsida. (Anm: Använd inte vortexblandare för detta steg). Resuspendera spermerna 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. Spermerna 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 spermavprov:

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 spermerna inte bildar en pellet på normalt sätt (ser ut som en "grumlig sträng" som sitter fast i botten på centrifugrøret) efter förbearbetningen av provet med nålen och sprutan (steg 1), ska så mycket av supernatanten som möjligt försiktigt aspireras av utan att den "grumliga spermiesträngen" störs, med hjälp av en steril nål och en injektionsspruta. Detta kan åstadkommas genom att man håller nålens avfasade

- kant stadigt mot centrifugrørets vägg och sakta börjar aspirera ovanifrån och nedåt i røret. 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. Spermerna 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.

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

MHM kan kompletteras med kvalitetstestad 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 försökjda med kompletterat MHM.
- Skölj oocyterna i värm och kompletterat 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 bedöming 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.

KONTRAIKATIONER

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

LIEUVIŲ K.

ES PERSPĖJIMAS. Skirta naudoti tik specialistams.

NAUDOJIMO INDIKACIJA

Gentamicinu papildyta MHM terpė yra skirta naudoti atliekant pagalbino 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) metodus ir embrionų perkelti į gimdą embrionų perkėlimo procedūrų metu.

ĮTAISO APRAŠYMAS

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 metodu paruošti, spermatozoidams išplauti, kiaušialąstėms paimti ir skalauti, vidiniam gimdos apseklinimui (IUI), 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 membraninį filtrą ir aseptiškai paruošta taikant gamybos metodus, patvirtintus 10⁻³ sterilumo užtikrinimo lygiui (SAL) atitikti.

Kiekviena MHM partija buvo išbandyta pagal šiuos metodus: endotoksinų kiekio nustatymas pagal kardauodegio krabo (Limulus polyphemus) amebocitų lizato (LAL) analizės metodą (≤0,25 EU/ml); biologinio suderinamumo nustatymas pagal pelės embriono tyrimą (viena ląstelė 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 parengtuose 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
Kalcio chloridas	MOPS
Aminorūgštys	Energetinis substratas
Glicinas	Natrio laktatas
Taurinas	Glukozę
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 baltyminaiais priedais kiekis įvairiose laboratorijose gali skirtis; jis priklauso nuo gametų ir embrionų apdorojimo 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 tirpalą į 9,5 ml terpės. Naudojant „FUJIFILM Irvine Scientific, Inc.“ „Serum Substitute Supplement“ (SSS) 50 mg/ml baltyminį 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 tirpalą į 9,5 ml terpės. Naudojant SSS 50 mg/ml baltyminį 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 tirpalą į 7,0 ml terpės. Naudojant SSS 50 mg/ml baltyminį 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:

- Terpę atšildykite iki kambario arba 37 °C temperatūros.
- Palikite sėklą 20–30 minučių kambario temperatūroje suskystėti.
- Laikydamies metodinių sterilumo reikalavimų, perkelkite 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, atgaivinama daugiausiai spermatozoidų. Didelės klamos mėginius gali tėti papildomai apdoroti užtikrinant visišką spermos regeneraciją. (Žr. skyrių „Specialaus apdorojimo sąlygos“.)
- Centrifuguokite mėgintuvėlius aplinkos temperatūroje 10 minučių santykinai centrifuginei jėgai (g) esant 200–300 x g.
- Sterilia pipete nusurbkite ir išmeskite virš spermatozoidų granulių nusistovėjusio supernatanto skystį. Tada spermatozoidus reikia resuspenduoti rodomojuo pirštu atsargiai patapšnojant išorinę mėgintuvėlio sienelę. (Pastaba. Šiam etapui negalima naudoti sūkurinės maišyklės.) Spermą resuspenduokite 1–2 ml šviežios terpės kiekyje ir uždenge dangtelį atsargiai vartydami sumaišykite. Pirmojo centrifugavimo etapai padalintus mėginius dabar reikia vėl sujungti į vieną mėgintuvėlį.
- Dar kartą centrifuguokite pagal 4 etapo nurodymus.
- Sterilia pipete nusurbkite ir išmeskite supernatanto skystį ir atsargiai rankiniu būdu sujunddami resuspenduokite spermatozoidų granules. Papildykite šviežia terpe iki bendrojo 0,5 ml tūrio. Spermatozoidai yra paruošti pagalbino 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 vienį iš sunkiausiai pasiduodančių apdoroti.

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

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

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

Embrionų perkėlimas

Embrionų perkėlimas iš mitybinės terpės 3 dieną arba 5 dieną:

- 3 dieną arba 5 dieną įvertinę embrionų brendimą, baltymų priedais papildytą terpę atšildykite iki kambario, arba 37 °C, temperatūros.
- Kiekvienam embrionų rinkiniui paruoškite po vieną sterilų plovimo indelį su pašildyta baltymų priedais papildyta MHM terpe.
- 1,0 ml pašildytos baltymų priedais papildytos MHM terpės išaškinkite į sterilios 1 šulinėlio lėkštelės šulinėlį.
- Plovimo indelį padėkite ant pašildyto mikroskopo stalielo.
- Plaukite embrionus plovimo indelyje po 2–3 kartus juos paimdami ir perkeldami į kitą vietą minimaliame pašildytos, baltymų priedais papildytos MHM terpės kiekyje šulinėlio viduje.
- 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 pagalbino 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 taistaiga yra atsakinga už produktą atsekamam duomenų kaupimą ir privalo laikytis savo šalies norminių atsekamumo užtikrinimo reikalavimų, jei taikoma

Negalima naudoti jokio terpo butelio, jei kystyje 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 – išmesiti visus butelįje ar buteliuke likusios terpės likučius.

KONTRAINDIKACIJOS

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

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 овоцити по време на процедури на аспириране на яйчников фоликул (не за промиване на яйчниково фоликули), промиване на сперма преди процедури на *in vitro* фертилизация (IVF) и интрацитоплазмено 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 подготовка на „swim up“ среда, промиване на сперма, извличане на овоцити и изплакване, вътрешочава инсеминация (IUI), интрацитоплазмено 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 лимулуз амeboицит 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 (Фармакопейта 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
Антибиотици	Натриев пируват
Гентамицин сулфат	
	Вода
	Качество – вода за инжектиране

БУФЕРНА СИСТЕМА

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

СУПЛЕМЕНТИРАНЕ С ПРОТЕИНИ

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 протеиново разтвор, използвайте при 10% (v/v). За 10 ml среда добавете 1,0 ml SSS към 9,0 ml среда.

За извличане на овоцити:

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 протеиново 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 протеиново разтвор, използвайте при 50% (v/v). За 10 ml среда добавете 1,0 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 втечи 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 съвпада с 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 пилета 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 пилета 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 втечяване. 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 слюз.
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“, прирелено 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 косения 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 овоцити (не за промиване на яйчниково 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 овоцитите и ги отстранете от фоликулната течност и възможната кръвна контаминация с помощта на стерилни пипети, предварително изплакнати със суплементирана MHM.
4. Изплакнете овоцитите в затоплена и суплементирана MHM.
5. Поставете овоцитите 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 яйчниково фоликули. Тази среда не е предназначена за използване в процедури за промиване на овоцити.

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 всякаво 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.

SLOVENŠČINA

OPOZORILU 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 (IU), intracitoplazemsko injiciranje semenčic (ICSI) in prenos embrijev. Izdelku je treba dodati beljakovine. Medij MHM vsebuje 10 µg/ml antibiotika gentamicinijevega 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:

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

PUFRSKI SISTEM

Medij MHM uporablja pufrski sistem, sestavljen iz kombinacije puetrov HEPES (N-2-hidroksietilpiiperazin-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:

1. Poskrbite, da se medij ogreje na sobno temperaturo ali 37 °C.
2. Počakajte od 20 do 30 minut, da se sperma utekočini pri sobni temperaturi.
3. Z aseptično tehniko prenesite utekočinjeno spermato v sterilno 10 ml konično centrifugirano 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.)
4. Epruvete 10 minut centrifugirajte pri sobni temperaturi, pri čemer uporabite silo 200–300 x g.
5. Z aspiracijo s sterilno pipeto odstranite supernatant nad »usedlino sperme« in ga zavrzite. Spermato morate nato ponovno suspendirati tako, da s kalcalcem nežno frcate po zunanji strani epruvete. (Opomba: Za ta korak ne uporabite vrtničnega mešalnika.) Ponovno suspendirajte spermato 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.
6. Ponovno centrifugirajte kot v 4. koraku.
7. 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.

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

2. Za prvi korak centrifugiranja omejite količino mešanice sperme in medija iz 1. koraka na 5 ml na centrifugirano epruveto.
3. 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 spolno vlaknasto spermato. To lahko naredite tako, da držite prirezani 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.
4. 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.

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

Prenos embrijev:

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

1. Na 3. ali 5. dan, potem ko ocenite razvoj embrijev, segrejte medij z dodanimi beljakovinami na sobno temperaturo ali 37 °C.
2. Za vsak nabor embrijev pripravite po eno sterilno posodo za spiranje, ki vsebuje predhodno segret medij MHM z dodanimi beljakovinami.
3. 1,0 ml predhodno segretega medija MHM z dodanimi beljakovinami prenesite v vdolbino sterilne posode z 1 vdolbino.
4. Posodo za spiranje postavite na ogrevano mizico.
5. 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.
6. Po spiranju so embriji pripravljeni 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 OPOZORILA

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 moltnost.

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.