



**Протеин
синтез**

Закр. **«Протеинсинтез»**
ИНН 7706721254, КПП 770601001, ОГРН 1097746356113
115035, г. Москва, 3-й Кадашевский переулок, д. 6, стр. 2
Тел.: 8(495)989-73-71 Факс 8(495)951-84-87

«УТВЕРЖДАЮ»
Генеральный директор ЗАО
«Протеинсинтез»
Ю.К.Егорова
«___» _____ 2014 г.

ЭКСПЛУАТАЦИОННАЯ ДОКУМЕНТАЦИЯ

на медицинское изделие

**«Наборы реагентов для криоконсервации
бластоцист»**

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ «НАБОРЫ РЕАГЕНТОВ ДЛЯ КРИОКОНСЕРВАЦИИ БЛАСТОЦИСТ»

НАБОР РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ЗАМОРАЖИВАНИЯ БЛАСТОЦИСТ (B-VIT)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов предназначен для замораживания бластоцист человека, полученных *in vitro*. Набор рассчитан на проведение 10 процедур замораживания бластоцист. Набор предназначен только для манипуляций *in vitro*.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип действия

Криоконсервация клеток представляет собой низкотемпературное хранение клеток с возможностью восстановления их биологических функций после размораживания. Хранение осуществляется при температуре -196° С в жидком азоте. Чтобы охлаждение до низких температур не вызвало повреждения живых клеток, необходимо перед охлаждением провести специальные криозащитные мероприятия, в том числе выдержать клетки в специальных криопротекторных растворах. Криопротекторные растворы представляют собой водные растворы, в состав которых входят компоненты физиологической среды и вещества-криопротекторы, препятствующие формированию кристаллов льда при охлаждении.

В состав «Набора реагентов для замораживания бластоцист» входят криопротекторные растворы, защищающие клетки бластоцисты от негативного воздействия охлаждения и препятствующие образованию кристаллов льда. В качестве криопротекторов используются этиленгликоль, фиколл, глицерин и диметилсульфоксид. Этиленгликоль, глицерин и диме-

гилсульфоксид снижают скорость нуклеации (скорость образования ядер кристаллизации), а фиколл снижает скорость роста кристаллов. Во избежание повреждения клеточных мембран избыточным осмотическим давлением, которое может возникнуть при погружении клеток в раствор с определенной концентрацией криопротекторов, используются несколько криопротекторных растворов с возрастающими концентрациями этих веществ.

2.2. Состав набора

В состав набора, рассчитанного на проведение 10 процедур, входят следующие компоненты:

Раствор 1	5 мл (1 флакон)
Раствор 2	5 мл (1 флакон)
Раствор 3	5 мл (1 флакон)
Раствор 4	2 мл (1 флакон)

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Все растворы, входящие в состав набора являются стерильными.

3.2. pH растворов 1, 2 и 3 составляет от 7,0 до 7,6.

3.3. Содержание бактериальных эндотоксинов составляет не более 0,5 ЕЭ/мл.

3.4. Специфическая активность:

Жизнеспособность в МЕА-тесте составляет не менее 70 %.

Выживаемость бластоцист после замораживания составляет не менее 70 %.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Все компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными.

4.2. Мерами предосторожности является соблюдение требований Сан-ПиН 2.1.3.2630-10 «Общие требования к организациям, осуществляющим медицинскую деятельность», утвержденных Постановлением Главного государственного санитарного врача РФ от 18 мая 2010 г. №58.

5. ОБОРУДОВАНИЕ, МАТЕРИАЛЫ И РЕАГЕНТЫ

Для проведения процедуры замораживания бластоцист необходимо следующее оборудование и материалы, не входящие в комплектацию набора:

- Ламинарный бокс;
- Стереомикроскоп с нижним светом и увеличением в 6 - 40 крат;
- Емкость с жидким азотом (пенопластовый стакан или широкогорлый металлический термос);
- Пинцет;
- Несмываемый фломастер;
- Капилляры для манипуляций с эмбрионами;
- Соломинки для витрификации;
- Шприцы стерильные объемом 1 - 5 мл;
- 4-луночный планшет для культивирования;
- Среды для манипуляций (HEPES-буфер).

6. МАТЕРИАЛ ДЛЯ ЗАМОРАЖИВАНИЯ

Материалом для замораживания являются бластоцисты человека, полученные в результате процедур экстракорпорального оплодотворения.

7. ПРОВЕДЕНИЕ ПРОЦЕДУРЫ

7.1. Подготовка к процедуре замораживания.

7.1.1. Во флакон с раствором 2 набора для замораживания поместить с помощью стерильного шприца 0,3 мл раствора 4, а во флакон с раствором 3 – 0,6 мл раствора 4. Полученные растворы перемешать.

Примечание:

Растворы 2 и 3 после добавления раствора 4 должны быть использованы в течение 3-х месяцев и храниться при температуре 4 - 8° С.

7.1.2. 4-луночный планшет поместить в ламинарный бокс и налить в центр планшета 1,5 мл среды для манипуляций.

7.1.3. В лунки планшета с помощью стерильных шприцев внести реагенты и растворы из набора в соответствии с таблицей 1.

Таблица 1

№ лунки	Наименование вносимого реагента	Количество вносимого реагента (мл)
1	Среда для манипуляций	0,5
2	Раствор 1	0,5
3	Раствор 2	0,5
4	Раствор 3	0,5

7.1.4. Подготовить емкость с жидким азотом для охлаждения соломинок с замораживаемым материалом.

7.1.5. Подготовить в необходимом количестве соломинки для витрификации (1 соломинка на 1 – 3 бластоцисты) и промаркировать их с помощью несмываемого фломастера.

7.2. Проведение процедуры замораживания.

7.2.1. Подготовленные для замораживания жизнеспособные бластоцисты поместить с помощью капилляра в лунку №1 планшета.

7.2.2. Бластоцисты, отобранные для замораживания в одной соломинке, поместить последовательно в лунки планшета и выдержать в растворах в течение времени, указанного в таблице 2.

Таблица 2

№ лунки	1	2	3	4
Содержимое лунки	Среда для манипуляций	Раствор 1	Раствор 2	Раствор 3
Время нахождения эмбриона в лунке	Без ограничений	5 мин	5 мин	30 сек

7.2.3. После выдерживания в растворах бластоцисты поместить в соломинку и закупорить ее, согласно инструкции производителя соломинки. Продолжительность манипуляции должна составлять не более 1 мин.

7.2.4. Закупоренную соломинку поместить с помощью пинцета в емкость с жидким азотом.

7.2.5. Соломинку с замороженными бластоцистами перенести в криохранилище для последующего хранения.

8. ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ И ПОБОЧНЫЕ ДЕЙСТВИЯ

Отсутствуют.

9. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Набор хранят в сухом, защищенном от света месте при температуре не выше 25°C в течение всего срока годности. При хранении при температуре ниже 18°C допустима кристаллизация раствора 4.

Транспортирование набора может производиться всеми видами крытого транспорта при температуре не выше 25°C .

Срок годности набора – 1 год.

Не использовать набор по истечении срока годности.

Для эффективного использования набора необходимо строгое соблюдение инструкции по применению.

10. ПОРЯДОК УТИЛИЗАЦИИ НАБОРА

Утилизация набора реагентов осуществляется согласно требованиям СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».

НАБОР РЕАГЕНТОВ ДЛЯ РАЗМОРАЖИВАНИЯ БЛАСТОЦИСТ (B-REV)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов предназначен для размораживания бластоцист человека, полученных *in vitro* и замороженных с помощью Набора реагентов для замораживания бластоцист (B-VIT). Набор рассчитан на проведение 10 процедур размораживания бластоцист. Набор предназначен только для манипуляций *in vitro*.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип действия

Криоконсервация клеток представляет собой низкотемпературное хранение клеток с возможностью восстановления их биологических функций после размораживания. Хранение осуществляется при температуре -196°C в жидком азоте. Чтобы охлаждение до низких температур не вызвало повреждения живых клеток, необходимо перед охлаждением провести специальные защитные мероприятия, в том числе выдержать клетки в криопротекторных растворах. Последующее размораживание этих клеток также требует проведение определенных манипуляций. Для восстановления биологических функций необходимо удалить криопротекторные растворы из размороженных клеток. С этой целью размороженные бластоцисты помещают в гипертонические растворы, препятствующие возникновению избыточного осмотического давления, которое может возникнуть в клетках при удалении криопротекторов.

В состав «Набора реагентов для размораживания бластоцист» входят специальные гипертонические растворы, защищающие клетки от негативного воздействия избыточного осмотического давления. Высокая осмолярность данных растворов достигается за счет определенных концентраций глицерина, этиленгликоля и сахарозы, которые, удерживая воду во

внеклеточной среде, предотвращают осмотический шок. По мере удаления криопротекторов из клеток, требуется снижение осмолярности среды, что достигается использованием растворов с последовательным снижением осмолярности.

2.2. Состав набора

В состав набора, рассчитанного на проведение 10 процедур, входят следующие компоненты:

Раствор 1	5 мл (1 флакон)
Раствор 2	5 мл (1 флакон)
Раствор 3	5 мл (1 флакон)
Раствор 4	5 мл (1 флакон)

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Все растворы, входящие в состав набора являются стерильными.

3.2. pH растворов составляет от 7,0 до 7,6.

3.3. Содержание бактериальных эндотоксинов составляет не более 0,5 ЕЭ/мл.

3.4. Специфическая активность:

Жизнеспособность в МЕА-тесте составляет не менее 70 %.

Выживаемость бластоцист после размораживания составляет не менее 70 %.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Все компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными.

4.2. Мерами предосторожности является соблюдение требований Сан-ПиН 2.1.3.2630-10 «Общие требования к организациям, осуществляющим медицинскую деятельность», утвержденных Постановлением Главного государственного санитарного врача РФ от 18 мая 2010 г. №58.

5. ОБОРУДОВАНИЕ, МАТЕРИАЛЫ И РЕАГЕНТЫ

Для проведения процедуры размораживания blastocysts необходимо следующее оборудование и материалы, не входящие в комплектацию набора:

- Ламинарный бокс;
- Стереомикроскоп с нижним светом и увеличением в 6 - 40 крат;
- Капилляры для манипуляций с эмбрионами;
- Шприцы стерильные объемом 1 - 5 мл;
- 4-луночный планшет для культивирования;
- Среда для манипуляций (HEPES-буфер).

6. МАТЕРИАЛ ДЛЯ РАЗМОРАЖИВАНИЯ

Материалом для размораживания являются blastocysts человека, полученные в результате процедур экстракорпорального оплодотворения и замороженные с помощью «Набора реагентов для замораживания blastocysts (B-VIT)».

7. ПРОВЕДЕНИЕ ПРОЦЕДУРЫ

7.1. Подготовка к процедуре размораживания.

7.1.1. Подготовить чашку для культивирования размороженных blastocysts.

7.1.2. 4-луночный планшет поместить в ламинарный бокс и налить в центр планшета 1,5 мл среды для манипуляций

7.1.3. В лунки планшета с помощью стерильных шприцев внести реагенты и растворы из набора в соответствии с таблицей 1.

Таблица 1

№ лунки	Наименование вносимого реагента	Количество вносимого реагента (мл)
1	Раствор 1	0,5
2	Раствор 2	0,5
3	Раствор 3	0,5
4	Раствор 4	0,5

7.2. Проведение процедуры размораживания.

7.2.1. Разморозить соломинку с бластоцистами согласно инструкции производителя соломинки. Раскупорить соломинку под жидким азотом и мгновенно погрузить кончик соломинки с бластоцистами в лунку №1 планшета. Выдержать бластоцисты в лунке в течение 1 мин.

7.2.2. Перенести последовательно бластоцисты с помощью капилляра в соответствующие лунки планшета и выдержать их в каждой лунке согласно таблице 2.

Таблица 2

№ лунки	1	2	3	4
Содержимое лунки	Раствор 1	Раствор 2	Раствор 3	Раствор 4
Время нахождения бластоцист в лунке	1 мин	2 мин	3 мин	4 мин

7.2.3. Дважды отмыть бластоцисты в среде для манипуляций (HEPES-буфер) и поместить бластоцисты в чашку для культивирования. Культивировать бластоцисты стандартным образом.

8. ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ И ПОБОЧНЫЕ ДЕЙСТВИЯ

Отсутствуют.

9. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Набор хранят в сухом, защищенном от света месте при температуре не выше 25° С в течение всего срока годности. При хранении при температуре ниже 18° С допустима кристаллизация раствора 4.

Транспортирование набора может производиться всеми видами крытого транспорта при температуре не выше 25° С.

Срок годности набора – 1 год.

Не использовать набор по истечении срока годности.

Для эффективного использования набора необходимо строгое соблюдение инструкции по применению.

10. ПОРЯДОК УТИЛИЗАЦИИ НАБОРА

Утилизация набора реагентов осуществляется согласно требованиям СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».

По всем вопросам, касающимся применения и качества данных наборов, обращаться по адресу:

АО «Протеинсинтез».

15035, г.Москва, 3-й Кадашевский пер., д. 6, стр. 2.

тел.: 8 (495) 989-73-71

факс: 8 (495) 951-84-87