

WAK - CHEMIE
MEDICAL GMBH
Siemensstraße 9
D-61449 Steinbach/Ts
Tel.: +49-6171-28430 Fax +49-6171-695646
e-mail: info@wak-chemie.com

Approved by

Dr. med. Florian Pobitschka

8.11.2013

Florian Pobitschka

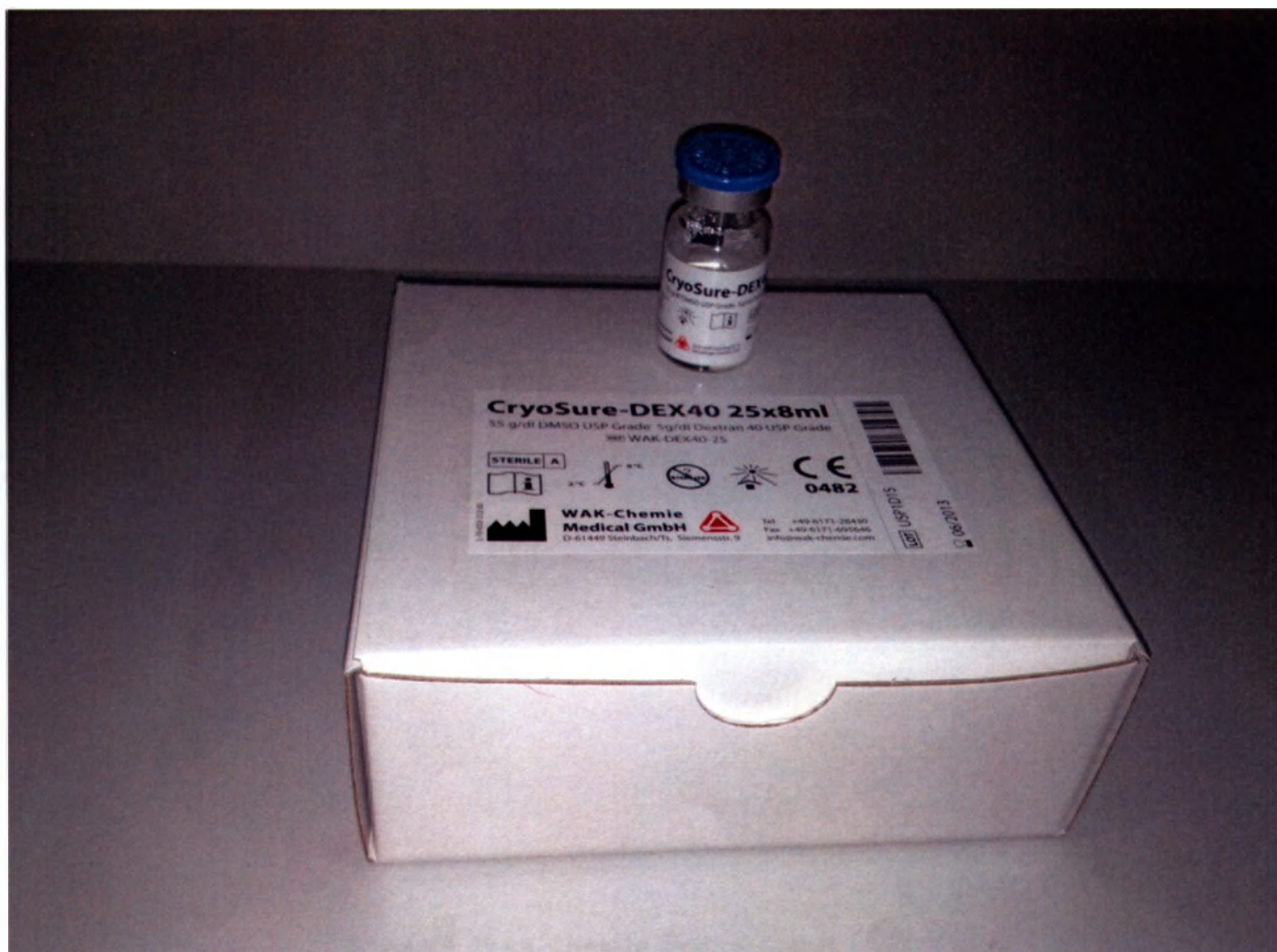
Medical Director

WAK-Chemie Medical GmbH

Instructions for use CryoSure-DEX40

CryoSure-DEX40

Cryoprotectant for the cryopreservation of cellular and biological materials
in liquid nitrogen



WAK-Chemie Medical GmbH

Siemensstraße 9 D-61449 Steinbach/Ts
Tel. +49 61 71 / 28 43 0 • Fax +49 61 71 / 69 56 46
e-mail: info@wak-chemie.com • www.wak-chemie.com



Wak-Dure-DEX40 - Cryoprotectant for the cryopreservation of hematopoietic stem cells to protect cells from freezing injuries during freezing and thawing.

Contains: 55 g/dl DMSO USP Grade, 5 g/dl Dextran 40 USP Grade, Water for injection EP

CE
0482

Sterile acc.to EP/USP

Pyrogen-free acc. to EP

Endotoxin-free acc. to EP/USP

Free of Mycoplasma acc. to EP



WARNING:

**Do not autoclave.
Do not use unless solution is
clear.
Not for injection.**

STERILE A

Sterilized by
sterile-filtration



Store at 2°C - 8°C



Use until: see product
labelling



Do not re-sterilize



Protect from
strong light

LOT

Lot number: see product
labelling



Do not use if packaging
is damaged



Follow
instructions for use

REF

WAK-DEX40-25 (box of
25 x 8 ml vial)



WAK-Chemie Medical GmbH

Siemensstraße 9 D-61449 Steinbach/Ts

Tel. +49 61 71 / 28 43 0 • Fax +49 61 71 / 69 56 46

e-mail: info@wak-chemie.com • www.wak-chemie.com



Introduction.

CryoSure-DEX40 is a ready-to-use cryoprotective solution for the addition to a volume reduced buffy coat suspension from cord blood according to the method of Rubinstein et al. CryoSure-DEX40 is a solution consisting of 50 % DMSO and 50 % v/v of a 10% aqueous solution of Dextrane 40.

DMSO (Dimethyl Sulfoxide) is a cryoprotectant which penetrates the cell wall and takes its cryoprotectant effect within the cell. It reduces the osmotic stress on the cells during freezing and thawing and antagonizes the osmotic shock. Also DMSO protects the cells by reducing dehydration and shrinkage of the cells during the freezing process. After thawing DMSO has to be removed from the stem cell suspension by means of wash centrifugation.

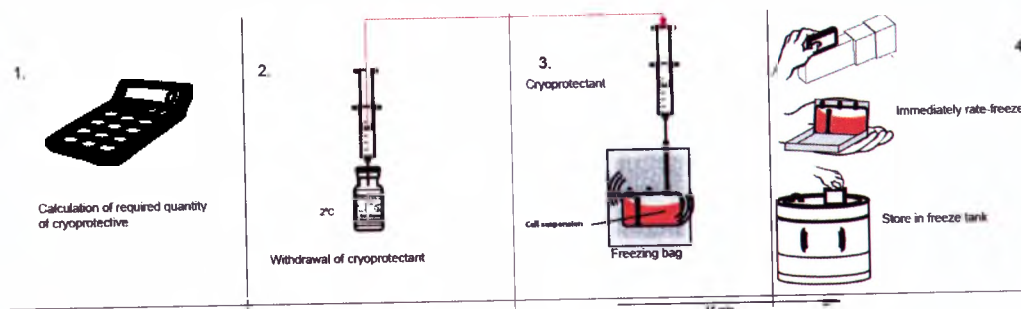
According to the protocol of Rubinstein et al the DMSO-concentration in the volume-reduced ready-to-freeze endvolume is 10% v/v. Before freezing and after thawing DMSO is potentially cytotoxic. The cytotoxicity is dependant on the DMSO-concentration, the time of exposure and the temperature of the stem cell suspension during the time of exposure to DMSO.

Therefore before freezing respectively after thawing the stem cell suspension has to be kept cool at 2°C whilst CryoSure-DEX40 is added to the stem cell suspension, respectively before removal of CryoSure-DEX40 from the stem cell suspension after thawing. Immediately after addition of DMSO the freezing process has to be started. Likewise immediately after thawing the wash out process has to be started.

In case of adequate cooling of the stem cell suspension during DMSO-exposure in the unfrozen state, no relevant adverse effects on the cells are observed at end volume concentrations of DMSO between 5 and 10 %. Since DMSO is a strong aprotic solvent, special care has to be taken to only use DMSO-compatible materials for withdrawal of the DMSO from the vial and during transition of the DMSO to the target suspension and to minimize the contact time of DMSO with such materials. All processes related to the application and elimination of CryoSure-DEX40 have to be validated by the user.

2. Addition of CryoSure-DEX40 to the stem cell suspension.

CryoSure-DEX40 is added to the volume-reduced cord blood suspension as the last step before initiating the freezing process.



Calculation of the composition.

Amount of CryoSure-DEX40 to be added to the stem cell suspension has to be chosen in a way so that the envisaged volume-concentration of DMSO is met. 8 ml of CryoSure-DEX40 contain 4 ml of DMSO (2 4,4 g DMSO). The specific gravity of DMSO is 1,1 g/cm³. In accordance with the protocol of Rubinstein et al 5 ml of CryoSure-DEX40 are to be added to 20 ml of volume-reduced cord blood. Like this the added 2,5 ml of DMSO result in an endvolume concentration of DMSO of 10% within the ready-to-freeze suspension.

2.2. Withdrawal of CryoSure-DEX40 from the vial and preparation of the cryoprotective solution.

Before addition to the stem cell suspension CryoSure-DEX40 is to be cooled to 2°C. In order to reach the envisaged concentration of CryoSure-DEX40 in the endvolume the necessary amount is to be taken volumetrically from the vial.

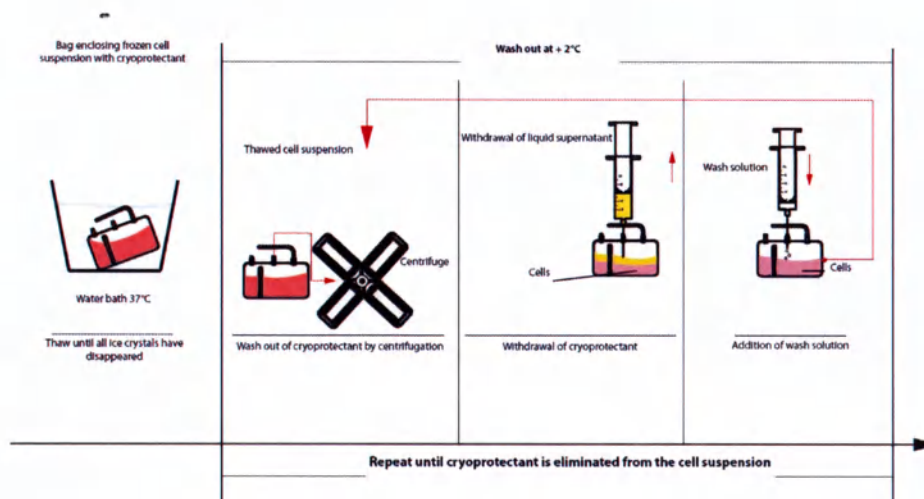
2.3. Addition of the cryoprotective solution to the suspension of hematopoietic stem cells.

Before addition of CryoSure-DEX40 the stem cell suspension is placed on an ice bed and cooled to 2°C. Thereafter CryoSure-DEX40, which has also been cooled to 2°C, is added volumetrically at a constant velocity within a period of 15 minutes to the stem cell suspension until the designated end volume is reached. Preferably a calibrated syringe pump is to be used for the addition of the cryoprotective solution. The decelerated addition of the DMSO-containing CryoSure-DEX40 provides for the osmotic tolerance of the hyperosmolaric DMSO and the cells in the target suspension. During the addition process the target suspension is continuously and consistently mixed in order to assure a consistent dispersion of the conveyed DMSO within the target suspension.

2.4. Begin of freezing process of the cryoprotective solution.

Immediately after addition of the complete designated amount of CryoSure-DEX40 to the target suspension the freezing process has to be started. Until the beginning of freezing the temperature of the ready-to-freeze stem cell suspension has to be kept at 2°C. For freezing standard freezing procedures have to be applied as specified in literature. A freezing rate of 1°C/minute until the final freeze-store temperature is reached has been described as an applicable freezing rate for hematopoietic stem cells.

Removal of cryoprotectant from the stem cell suspension after thawing.



Immediately after the completed thawing process the cryoprotective solution must be washed out of the stem cell suspension. The washing process is executed in several washing steps consisting of centrifugation, withdrawal of liquid supernatant and resuspension of the cells with an appropriate wash solution. During the washing process until the quantitative elimination of the cryoprotectant from the stem cell suspension the suspension has to be kept cool at 2°C. Consequently the wash out process has to be performed by means of a refrigerated centrifuge. The validation of the elimination process is the responsibility of the user. For performing the wash out process within a closed system several methods are available.

4. Storage and Transportation.

CryoSure-DEX40 is to be stored at 2-8°C and light-protected. The storage of the vials in the cardboard boxes is sufficient for such light protection.

Stability studies have shown that long term exposure of CryoSure-DEX40 to temperatures down to -20°C have no negative impact on product quality.

Intermediate exposure to 50°C for up to 3 weeks has no negative impact on product quality. Therefore temperature controlled transportation is not necessary. Transportation should be carried out using cool packs in order to achieve the storage temperature interval also during transportation.

ing and Labelling.

5.1. Primary Packaging.

Characteristic / Component of all WAK-DEX40-25	Specification / applicable norm
Borosilicate Vials	Glass vials are of type I glass according EP chapter 3.2.1, Glass containers for Pharmaceutical Use'
Brombutyl stoppers, Teflon faced	Elastomer stoppers compliant with USP chapter <381> 'Physicochemical Tests for Elastomeric closures' and EP chapter 3.2 'Physicochemical Test for rubber closures for containers of aqueous preparations for parenteral use' Teflon coated on the product contact face inside the vial

5.2. Secondary Packaging

Characteristic / Component of all WAK-DEX40-25	Specification / applicable norm
Secondary packaging	Cardbox WAK-DEX40-250: for 25 vials of 8 ml filling volume each

5.3. Labelling

Characteristic / Component of all WAK-DEX40-25	Specification / applicable norm
Vial label	Compliant with norms: DIN EN 1041 and DIN EN 980
Box label	Compliant with norms: DIN EN 1041 and DIN EN 980

Утверждено

Флорианом Побичка
Доктор медицинских наук
08.11.2013 года
/Подпись/

Печать компании:
ВАК-ХИМИ МЕДИКАЛ ГмбХ
Сименсштрассе, 9
D-61449 Штайнбах/Тс.,
Германия
Тел.: +49 61 71/28 43 0
Факс: +49 61 71/695646
Электронный адрес:
info@wak-chemie.com

Медицинский директор
ВАК-Хими Медикал ГмбХ

ИНСТРУКЦИЯ ПО ЭКСПЛУАТАЦИИ Раствора CryoSure-DEX40

Раствор для криохранения клеточного и биологического
материалов в жидком азоте

/Фото/

ВАК-Хими Медикал ГмбХ
Сименсштрассе, 9 D-61449 Штайнбах/Тс., Германия
Тел.: +49 61 71/28 43 0 Факс: +49 61 71/695646
Электронный адрес: info@wak-chemie.com
www.wak-chemie.com

Раствор CryoSure-DEX40 – криозащитный раствор для криохранения гемопоэтических стволовых клеток для защиты клеток от повреждений во время заморозки и разморозки.

Состав: 55 г/дл ДМСО реагент фармакологической чистоты,
5 г/дл Декстрана 40 реагент фармакологической чистоты,
вода для инъекций EP (Европейская Фармакопея).

CE
0482

Стерильность в соответствии с EP/USP (Европейской Фармакопеей/Фармакопеей США).
Без пирогенов в соответствии с EP (Европейской Фармакопеей).
Без эндотоксинов в соответствии с EP/USP (Европейской Фармакопеей/Фармакопеей США).
Без микоплазмы в соответствии с EP (Европейской Фармакопеей)

Не подвергать паровой стерилизации.

ВНИМАНИЕ: Не использовать раствор, если он помутнел.
Не для инъекций.



STERILE A

Стерилизовано
методом
стерилизующего
фильтрования.



Хранить при
температуре 2°C
- 8°C



Использовать до:
смотрите на
ярлыке товара



Не
перестерилизовывать.



Избегать
попадания
прямого
солнечного
света.

LOT

Номер партии:
смотрите на
ярлыке товара



Не использовать, если
упаковка повреждена



Следовать
советам
инструкции для
пользователя

REF

WAK-DEX40-25
(25 флаконов x 8
мл)

ВАК-Хими Медикал ГмбХ

Сименсштрассе, 9 D-61449 Штайнбах/Тс., Германия
Тел.: +49 61 71/28 43 0 Факс: +49 61 71/695646

Электронный адрес: info@wak-chemie.com

www.wak-chemie.com

1. Введение

Раствор CryoSure-DEX40 – это готовый к использованию раствор криопротектора для добавления к уменьшенному объему суспензии лейкотромбоцитарного слоя, полученного из пуповинной крови согласно методу Рубинштейна. Раствор CryoSure-DEX40 состоит из 50% объемного содержания ДМСО и 50% объемного содержания 10% водного раствора Декстрана 40.

ДМСО (Диметилсульфоксид) – это криозащитный раствор (криопротектор), который путем проникновения через клеточную стенку оказывает криозащитное действие на клетку изнутри. Он способствует понижению осмотического давления в клетке в процессе замораживания и размораживания и противодействует осмотическому шоку. Также ДМСО защищает клетку посредством ослабления процессов дегидрирования и сжатия клетки при замораживании. После размораживания ДМСО должен быть сразу удален из суспензии стволовых клеток с помощью процесса отмывки клеток.

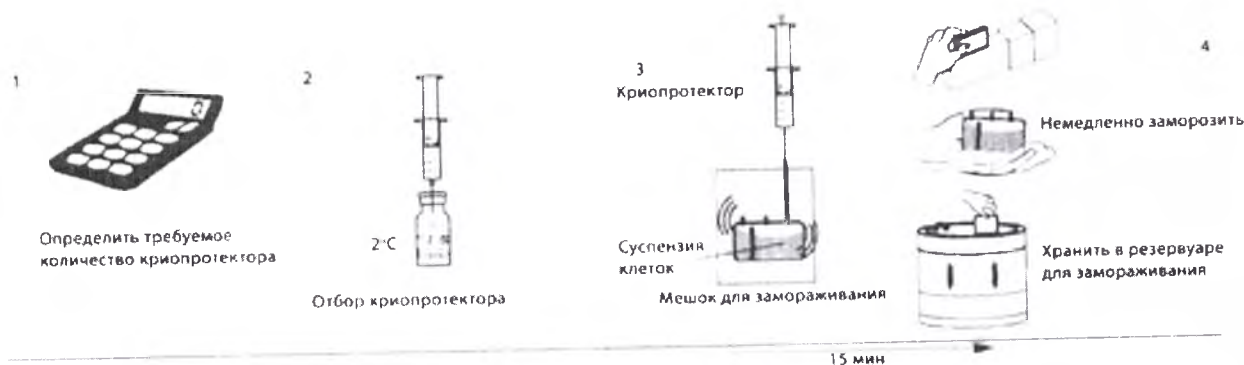
Согласно протоколу Рубинштейна концентрация ДМСО в конечном объеме суспензии составляет 10% объемного содержания. До замораживания и после размораживания ДМСО является потенциально цитотоксичным. Его цитотоксичность зависит от концентрации ДМСО, времени воздействия и температуры суспензии стволовых клеток на протяжении всего времени воздействия ДМСО.

Поэтому как до замораживания, так и после размораживания температура клеточной суспензии должна поддерживаться на уровне 2°C на протяжении всего времени добавления и удаления раствора CryoSure-DEX40 из клеточной суспензии. Процесс замораживания должен быть начат сразу после добавления ДМСО. Аналогично, после размораживания клеточной суспензии необходимо сразу начать процесс отмывки.

В случае достаточного охлаждения суспензии стволовых клеток, воздействие ДМСО в незамороженном состоянии не приводит к значительным побочным воздействиям на клетки, при конечной объемной концентрации ДМСО от 5 до 10%. Так как ДМСО является сильным апротонным растворителем, необходимо соблюдение особой осторожности при использовании материалов, совместимых с ДМСО, в процессе отбора ДМСО из флакона и в процессе переноса ДМСО к клеточной суспензии, а также минимизация времени воздействия ДМСО на такие материалы. Все процессы по применению и удалению раствора CryoSure-DEX40 должны контролироваться пользователем.

2. Добавление раствора CryoSure-DEX40 к суспензии стволовых клеток.

Процесс замораживания должен быть начат сразу после добавления всего объема раствора CryoSure-DEX40 к конечной суспензии уменьшенного объема пуповинной крови.



2.1. Определение состава раствора криозащитного раствора

Необходимое для добавления к суспензии стволовых клеток количество раствора CryoSure-DEX40 должно быть подобрано таким образом, чтобы предусмотренная концентрация ДМСО в конечном объеме была достигнута. В 8 мл раствора CryoSure-DEX40 содержится 4 мл ДМСО ($\pm 4,4$ г ДМСО). Относительная плотность ДМСО $1,1 \text{ г/см}^3$. В соответствии с протоколом Рубинштейна 5 мл раствора CryoSure-DEX40 должны быть добавлены к 20 мл уменьшенного объема пуповинной крови. Таким же образом необходимо добавить 2,5 мл ДМСО для доведения до предусмотренной концентрации ДМСО – 10% внутри суспензии готовой к процессу замораживания.

2.2. Отбор раствора CryoSure-DEX40 из флакона и подготовка криозащитного раствора.

Раствор CryoSure-DEX40 необходимо охладить до 2°C перед добавлением к суспензии стволовых клеток. Для доведения раствора CryoSure-DEX40 до предусмотренной концентрации в конечном объеме, необходимое количество CryoSure-DEX40 следует отобрать из флакона.

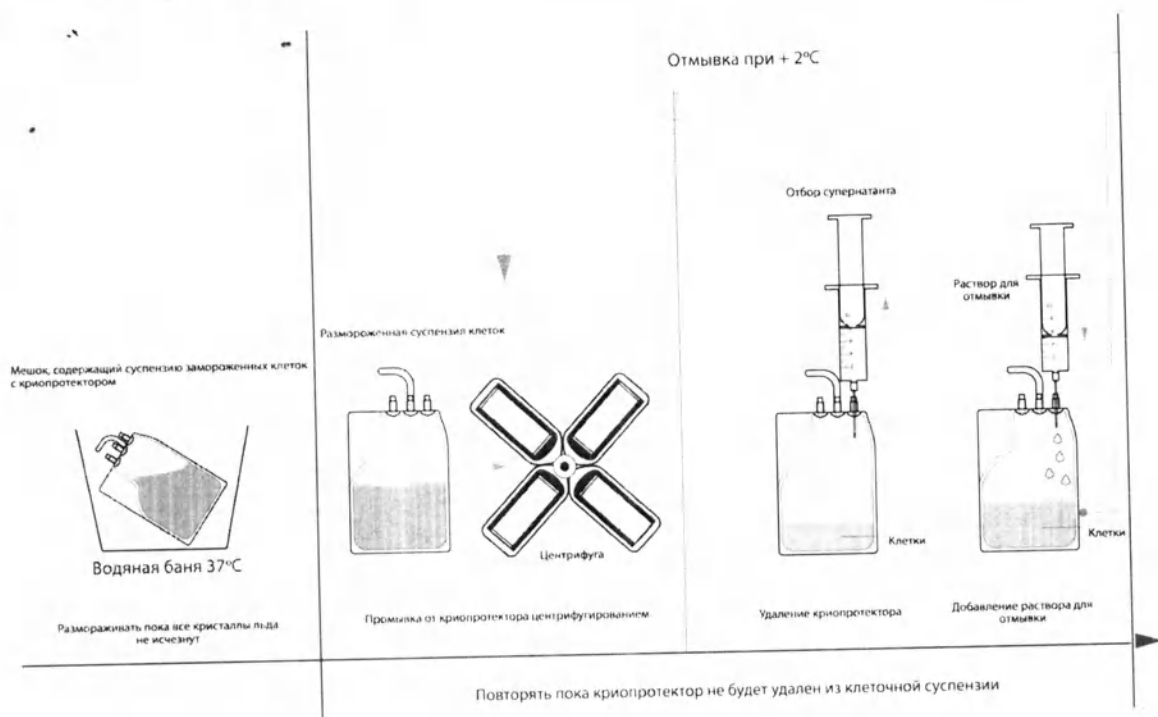
2.3. Добавление криозащитного раствора к суспензии гемопоэтических стволовых клеток.

Перед добавлением раствора CryoSure-DEX40 суспензия стволовых клеток помещается в лед и охлаждается до 2°C . После чего, предварительно охлажденный до 2°C раствор CryoSure-DEX40, объемно добавляется с постоянной скоростью, в течение 15 минут к предварительно определенному объему суспензии стволовых клеток. Для добавления криозащитного раствора предпочтительнее использовать калибровочный шприцевой насос. Замедленное добавление ДМСО-содержащего раствора CryoSure-DEX40 обеспечивает осмотическую резистентность гиперосмолярного ДМСО и клеток в конечной суспензии. В процессе добавления конечная суспензия постоянно и равномерно перемешивается, обеспечивая равномерное распределение ДМСО в этой суспензии.

2.4. Начало процесса замораживания криозащитного раствора.

Процесс замораживания должен быть начат сразу после добавления всего объема раствора CryoSure-DEX40 к конечной суспензии. Перед началом процесса замораживания температура суспензии стволовых клеток должна поддерживаться 2°C . Для процесса замораживания должны применяться стандарты, описанные в специальной литературе. В соответствии с описанными данными по скорости замораживания гемопоэтических клеток, скорость замораживания 1°C/минуту должна поддерживаться до достижения температуры хранения.

3. Отбор криозащитного раствора из суспензии стволовых клеток после размораживания



Отмывку суспензии стволовых клеток от криозащитного раствора необходимо проводить сразу после завершения процесса размораживания. Процесс отмывки выполняется в несколько этапов, включающих центрифугирование, отбор жидкого супернатанта и **ресуспендирование** клеток с соответствующим раствором для промывки. Температура суспензии стволовых клеток должна поддерживаться 2°C в течение всего процесса отмывки до количественного устранения криозащитного раствора из суспензии. Поэтому процесс отмывки необходимо выполнять с помощью центрифуги с охлаждением. Выбор процесса отмывки утверждается пользователем. Выполнение процесса отмывки с помощью закрытых систем возможно несколькими методами.

4. Условия хранения и транспортировки.

Раствор CryoSure-DEX40 хранится при температуре 2 - 8°C и предохраняется от попадания на него прямых солнечных лучей. Хранение флаконов в специальной картонной коробке достаточно, чтобы защитить раствор от прямого попадания прямых солнечных лучей.

Испытания стабильности показали, что долгосрочное температурное воздействие на раствор CryoSure-DEX40, ниже -20°C, не имеет отрицательных последствий на качество продукта.

Температурное воздействие до 50°C в течение 3 недель не имеет отрицательных последствий на качество продукции. Поэтому контроль температуры во время транспортировки не обязателен. Транспортировка должна осуществляться с использованием хладагента для того, чтобы достигнуть температурного интервала хранения также и во время транспортировки.

5. Упаковка и маркировка.

5.1. Первичная упаковка.

Характеристика / Компоненты WAK-DEX40-25	Спецификация / соответствие стандартам
Флаконы из боросиликатного стекла	Стекланные флаконы относятся к I типу стекла, что соответствует стандартам Европейской Фармакопеи, глава 3.2.1 «Стекланные контейнеры для фармацевтического применения»
Пробка из бромбутила, обработанная тефлоном	Пробки из эластомеров соответствуют главе <381> Фармакопеи США «Физикохимические исследования эластомерных уплотнений (пробок)» и главе 3.2 Европейской Фармакопеи «Физикохимические исследования резиновых уплотнений (пробок) для контейнеров, предназначенных для водных растворов для парентерального применения». Тефлоновое покрытие контактирует с внешней стороной пробки флакона

5.2. Вторичная упаковка.

Характеристика / Компоненты WAK-DEX40-25	Спецификация / соответствие стандартам
Вторичная упаковка	Картонная коробка WAK-DEX40: 25 флаконов, объемное заполнение 8 мл в каждом

5.3. Маркировка.

Характеристика / Компоненты WAK-DEX40-25	Спецификация / соответствие стандартам
Маркировка флакона	Соответствует стандартам: DIN EN 1041 и DIN EN 980
Маркировка коробки	Соответствует стандартам: DIN EN 1041 и DIN EN 980

6. Государственные и международные стандарты.

Аспект	Государственные или международные стандарты
Содержимое флаконов: 55 % вес/объем ДМСО	Фармакопейная статья Фармакопеи США для Диметилсульфоксида Фармакопейная статья Европейской Фармакопеи для Диметилсульфоксида
50 % объем/объем воды для инъекций	Фармакопейная статья Европейской Фармакопеи для Воды для инъекций
5 % вес/объем Декстрана 40	Фармакопейная статья Фармакопеи США для Декстрана 40
Флаконы	Европейская Фармакопея Глава 3.2.1 «Стеклянные контейнеры для фармацевтического применения»
Пробки	Глава 3.2 Европейской Фармакопеи «Физикохимические исследования резиновых уплотнений для контейнеров, предназначенных для водных растворов для парентерального применения» Глава <381> Фармакопеи США «Физикохимические исследования эластомерных уплотнений»
Маркировки и инструкции по применению	DIN EN 1041 «Информация, предоставленная производителем медицинских изделий»
Процесс заполнения в асептических условиях	IN EN ISO 13408 «Процесс асептической обработки изделий медицинского назначения»

7. Требования безопасности.

Не использовать, если раствор непрозрачный.
 Предохранять от попадания прямых солнечных лучей.
 Не перестерилизовывать.
 Не подвергать паровой стерилизации.
 Не для инъекций.
 Надевать защитные перчатки.

8. Требования по охране окружающей среды.

Биологически растворимый, не опасен для окружающей среды.
 Утилизировать в соответствии с местным регулированием.

08.11.2013 года /подпись/

Флориан Побичка. Доктор медицинских наук
 Руководитель отдела контроля качества,
 Медицинский директор

Печать компании: ВАК-Хими Медикал ГмбХ

Сименсштрассе, 9, D-61449 Штайнбах/Тс., Германия

Тел.: +49 61 71/28 43 0, Факс: +49 61 71/695646

Электронный адрес: info@wak-chemie.com

Перевод с английского языка на русский язык выполнен мной, Соколовой Людмилой Вячеславовной. Требования к тексту перевода (максимальная точность, перевод всех реквизитов, грамотное изложение, соблюдение терминологии и сокращений и т.п.) мне разъяснены. Принимаю на себя личную ответственность за верность выполненных мною переводов документов. Обязуюсь соблюдать тайну совершения нотариальных действий и сведений, которые стали мне известны в связи с переводом документов.

Подпись

Город Москва.

Тридцатое декабря две тысячи тринадцатого года.

Я, Мозгунова Наталья Сергеевна, нотариус города Москвы, свидетельствую подлинность подписи, сделанной переводчиком Соколовой Людмилой Вячеславовной в моем присутствии. Личность его установлена.

Зарегистрировано в реестре за №

11-5936

Взыскано по тарифу 700

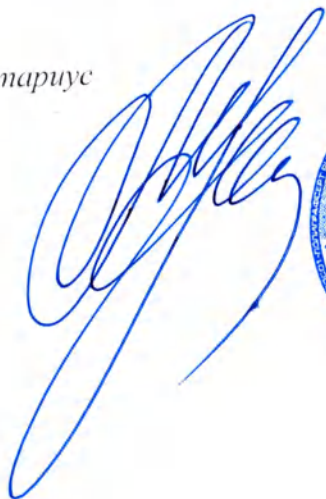
руб.

Нотариус



Всего прошито, пронумеровано и
скреплено печатью 15 лист об

Нотариус



Approved by

Dr. med. Florian Pobitschka

MEDICAL GMBH

Siemensstrasse 9

D-61449 Steinbach/Ts

Tel.: +49-6171-28430 Fax: +49-6171-695646

e-mail: info@wak-chemie.com

8.11.2013

Medical Director

WAK-Chemie Medical GmbH

Instructions for use CryoSure-DMSO

CryoSure-DMSO

Cryoprotectant for the cryopreservation of cellular and biological materials
in liquid nitrogen



WAK-Chemie Medical GmbH

Siemensstraße 9 D-61449 Steinbach/Ts

Tel. +49 61 71 / 28 43 0 • Fax +49 61 71 / 69 56 46

e-mail: info@wak-chemie.com • www.wak-chemie.com



WakoSure-DMSO - Cryoprotectant for the cryopreservation of hematopoietic stem cells to protect cells from freezing injuries during freezing and thawing.



Contains: > 99,9 % USP Grade DMSO < 0,1 % water Specific Gravity: 1,095 - 1,101 g/cm³
Freezing point: 18,3°C MW: 78,13 Da

Sterile acc.to EP/USP
Pyrogen-free acc. to EP
Endotoxin-free acc. to EP/USP
Free of Mycoplasma acc. to EP

**Combustible at high temperatures.
Do not autoclave.
Do not use unless solution is clear.
Not for injection.**



WARNING:



Sterilized by sterile-filtration



Do not re-sterilize



Do not use if packaging is damaged



Store at 20°C to 30°C



Follow instructions for use



Use until: see product labelling



Lot number: see product labelling



WAK-DMSO-10 (10 x 10 ml)
WAK-DMSO-50 (6 x 50 ml)
WAK-DMSO-70 (6 x 70 ml)



WAK-Chemie Medical GmbH

Siemensstraße 9 D-61449 Steinbach/Ts
Tel. +49 61 71 / 28 43 0 • Fax +49 61 71 / 69 56 46
e-mail: info@wak-chemie.com • www.wak-chemie.com



ization

1. Introduction.

DMSO (Dimethyl Sulfoxide) is a cryoprotectant which penetrates the cell wall and takes its cryoprotectant effect within the cell. It reduces the osmotic stress on the cells during freezing and thawing and antagonizes the osmotic shock. Also DMSO protects the cells by reducing dehydration and shrinkage of the cells during the freezing process. After thawing DMSO has to be removed from the stem cell suspension by means of wash centrifugation.

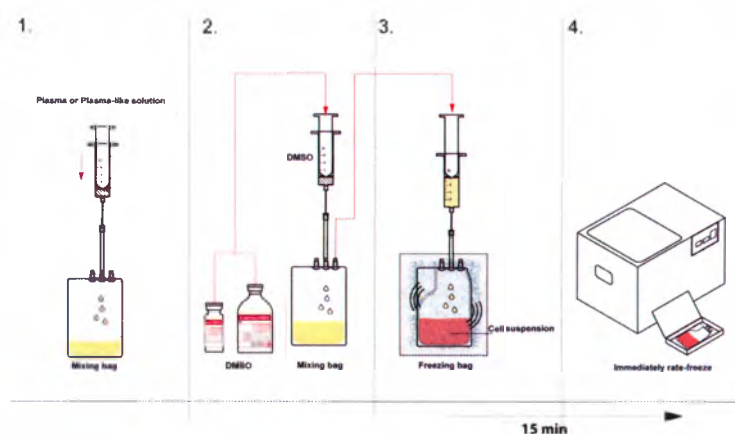
The end-volume-concentrations of DMSO in the stem cell suspension applicable for freezing are specified in literature between 5 % and 10 % of the end volume.

Before freezing and after thawing DMSO is potentially cytotoxic. The cytotoxicity is dependant on the DMSO- concentration, the time of exposure and the temperature of the stem cell suspension during the time of exposure to DMSO. Therefore before freezing respectively after thawing the stem cell suspension has to be kept cool at 2°C whilst CryoSure-DMSO is added to the stem cell suspension, respectively before removal of the DMSO from the stem cell suspension after thawing.

Immediately after addition of CryoSure-DMSO the freezing process has to be started. Likewise CryoSure-DMSO has to be washed out of the stem cell suspension immediately after thawing. In case of adequate cooling of the stem cell suspension during DMSO-exposure in the unfrozen state, no relevant adverse effects on the cells are observed at end volume concentrations of DMSO between 5 and 10 %. Since DMSO is a strong aprotic solvent, special care has to be taken to only use DMSO-compatible materials for withdrawal of the DMSO from the vial and during transition of the DMSO to the target suspension and to minimize the contact time of DMSO with such materials. All processes related to the application and elimination of CryoSure-DMSO have to be validated by the user.

2. Addition of CryoSure-DMSO to the stem cell suspension.

CryoSure-DMSO is added to the suspension of hematopoietic stem cells in form of a cryoprotective solution as the last step before initiating the freezing process of that suspension.



2.1. Calculation of the composition of the cryoprotective solution and provision of diluent.

One part of CryoSure-DMSO is added to at least one part of autologous plasma or of a plasma-like solution. Several plasma-like solutions are specified in literature, such as aqueous solutions of human albumin, Hydroxyethylstarch, Dextrane or others. The selection and validation of such a solution is the responsibility of the user.

The cryoprotective effect of CryoSure-DMSO depends on the DMSO-concentration in the cell suspension after addition of the cryoprotective solution. In literature the applicable DMSO concentration is specified between 5 and 10 % of the end volume.

2.2. Withdrawal of CryoSure-DMSO from the vial and preparation of the cryoprotective solution.

The necessary amount of autologous plasma or of a plasma-like solution is placed in an adequate mixing vessel. This mixing vessel is placed on an ice-bed.

The applicable amount of CryoSure-DMSO is volumetrically withdrawn from the vial and added to the plasma or plasma-like solution in the mixing vessel. During mixing of CryoSure-DMSO with autologous plasma or a plasma-like solution heat is released, which is dissipated via the ice-bed. After the addition of CryoSure-DMSO is completed, the resulting cryoprotective solution is cooled to 2°C.

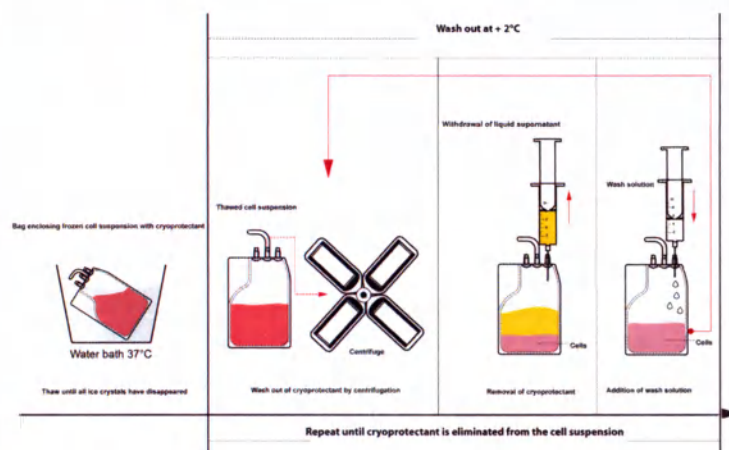
2.3. Addition of the cryoprotective solution to the suspension of hematopoietic stem cells.

Before addition of the cryoprotective solution the stem cell suspension is placed on an ice bed and cooled to 2°C. Thereafter the cryoprotective solution, which has also been cooled to 2°C, is added volumetrically at a constant velocity within a period of 15 minutes to the stem cell suspension until the designated end volume is reached. Preferably a calibrated syringe pump is to be used for the addition of the cryoprotective solution. The decelerated addition of the DMSO-containing cryoprotective solution provides for the osmotic tolerance of the hyperosmolaric DMSO and the cells in the target suspension. During the addition process the target suspension is continuously and consistently mixed in order to assure a consistent dispersion of the conveyed DMSO within the target suspension.

2.4. Begin of freezing process.

Immediately after addition of the complete designated amount of cryoprotective solution to the target suspension the freezing process has to be started. Until the beginning of freezing the temperature of the ready-to-freeze stem cell suspension has to be kept at 2°C. For freezing standard freezing procedures have to be applied as specified in literature. A freezing rate of 1°C/minute until the final freeze-store temperature is reached has been described as an applicable freezing rate for hematopoietic stem cells.

3. Withdrawal of cryoprotectant from the stem cell suspension after thawing.



Immediately after the completed thawing process the cryoprotective solution must be washed out of the stem cell suspension. The washing process is executed in several washing steps consisting of centrifugation, withdrawal of liquid supernatant and resuspension of the cells with an appropriate wash solution. During the washing process until the quantitative elimination of the cryoprotectant from the stem cell suspension the suspension has to be kept cool at 2°C. Consequently the wash out process has to be performed by means of a refrigerated centrifuge. The validation of the elimination process is the responsibility of the user. For performing the wash out process within a closed system several methods are available.

4. Storage and Transportation.

CryoSure-DMSO is to be stored at 20-30°C in order to assure that the DMSO maintains the liquid aggregate state to be ready for application.

Since DMSO has its freezing point at 18,3°C, storage below 20°C may lead to crystallization of DMSO. Consequently DMSO would then not be ready for application. The solidification of DMSO is completely reversible at exposure to temperatures above the freezing point of DMSO. A repetitive change of the liquid and solid aggregate state of DMSO does not alter the product quality and functioning of DMSO as a cryoprotectant when applied in the liquid state.

For this reason the lower limit of the storage temperature does not have to be maintained during transportation. Therefore a temperature-controlled transportation is not necessary for the transportation of CryoSure-DMSO.

The vials of CryoSure-DMSO shall be stored protected from light. The storage of the vials in the cardboard boxes is sufficient for such light protection.

Packaging and Labelling.

5.1. Primary Packaging.

Characteristic / Component of all CryoSure-DMSO, Cat-#: WAK-DMSO-10, WAK-DMSO-50, WAK-DMSO-70	Specification / applicable norm
Borosilicate Vials	Glass vials are of type I glass according EP chapter 3.2.1 ,Glass containers for Pharmaceutical Use'
Brombutyl stoppers, Teflon faced	Elastomer stoppers compliant with USP chapter <381> 'Physicochemical Tests for Elastomeric closures' and EP chapter 3.2 'Physicochemical Test for rubber closures for containers of aqueous preparations for parenteral use' Teflon coated on the product contact face inside the vial

5.2. Secondary Packaging.

Characteristic / Component of all CryoSure-DMSO, Cat-#: WAK-DMSO-10, WAK-DMSO-50, WAK-DMSO-70	Specification / applicable norm
Secondary packaging	Cardbox WAK-DMSO-10: for 10 vials of 10 ml filling volume each, WAK-DMSO-50: for 6 vials of 50 ml filling volume each, WAK-DMSO-70: for 6 vials of 70 ml filling volume each

5.3. Labelling.

Characteristic / Component of all CryoSure-DMSO, Cat-#: WAK-DMSO-10, WAK-DMSO-50, WAK-DMSO-70	Specification / applicable norm
Vial label	Compliant with norms: DIN EN 1041 and DIN EN 980
Box label	Compliant with norms: DIN EN 1041 and DIN EN 980

National and International Standards.

Aspect	National or international standard
Content of vials: DMSO	USP Monograph for Dimethyl Sulfoxide EP Monograph for Dimethyl Sulfoxide
Vials	EP Chapter 3.2.1 'Glass containers for Pharmaceutical use'
Stoppers	EP Chapter 3.2 'Physicochemical Tests for rubber closures for containers of aqueous preparations for parenteral use' USP chapter <381> 'Physicochemical Tests for elastomeric closures'
Labels and Instructions for Use	DIN EN 1041 'Information supplied by the manufacturer of medical devices'
Aseptic filling process	DIN EN ISO 13408 'Aseptic processing of health care products'

7. Safety Requirements

Do not use unless solution is clear.

Protect from strong light.

Do not re-sterilize.

Do not autoclave.

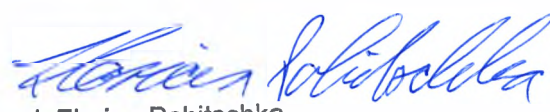
Not for injection.

Wear protective gloves.

8. Environmental requirements

Biodegradable, not hazardous for the environment.

Dispose in accordance with local regulations.

8.11.2013 

Dr. med. Florian Pobitschka
Head of Quality Assurance
Medical Director

Флорианом Побичка
Доктор медицинских наук
08.11.2013 года
/Подпись/

Печать компании:
ВАК-ХИМИ МЕДИКАЛ ГмбХ
Сименсштрассе, 9
D-61449 Штайнбах/Тс.,
Германия
Тел.: +49 61 71/28 43 0
Факс: +49 61 71/695646
Электронный адрес:
info@wak-chemie.com

Медицинский директор
ВАК-Хими Медикал ГмбХ

ИНСТРУКЦИЯ ПО ЭКСПЛУАТАЦИИ Раствора CryoSure-DMSO

Раствор для криохранения клеточного и биологического
материалов в жидком азоте

Фото

ВАК-Хими Медикал ГмбХ
Сименсштрассе, 9 D-61449 Штайнбах/Тс., Германия
Тел.: +49 61 71/28 43 0 Факс: +49 61 71/695646
Электронный адрес: info@wak-chemie.com
www.wak-chemie.com

Раствор CryoSure- DMSO – криозащитный раствор для криохранения гемопоэтических стволовых клеток для защиты клеток от повреждений во время заморозки и разморозки.

Состав: > 99 % ДМСО реагент фармакологической чистоты,

<0,1% воды. Относительная плотность: 1,095-1,101 г/см³.

Температура замерзания: 18,3°C. Молекулярная масса: 78,13 Дальтон



Стерильность в соответствии с EP/USP (Европейской Фармакопеей/Фармакопеей США).

Без пирогенов в соответствии с EP (Европейской Фармакопеей).

Без эндотоксинов в соответствии с EP/USP (Европейской Фармакопеей/Фармакопеей США).

Без микоплазмы в соответствии с EP (Европейской Фармакопеей)

Воспламеняется при высоких температурах.

Не подвергать паровой стерилизации.

ВНИМАНИЕ:

Не использовать раствор, если раствор помутнел.

Не для инъекций.



Стерилизовано
методом
стерилизующего
фильтрования.



Хранить при
температуре
+20°C - +30°C



Использовать до:
смотрите на
ярлыке товара



Не
перестерилизовывать.



Избегать
попадания
прямого
солнечного
света.



Номер партии:
смотрите на
ярлыке товара



Не использовать, если
упаковка повреждена



Следовать
советам
инструкции для
пользователя



WAK-DMSO-10
(10 флаконов x 10
мл)
WAK-DMSO-50
(6 флаконов x 50
мл)
WAK-DMSO-70
(6 флаконов x 70
мл)

ВАК-Хими Медикал ГмбХ

Сименсштрассе, 9 D-61449 Штайнбах/Тс., Германия

Тел.: +49 61 71/28 43 0

Факс: +49 61 71/695646

Электронный адрес: info@wak-chemie.com, www.wak-chemie.com

1. Введение

ДМСО (Диметилсульфоксид) – это криозащитный раствор (криопротектор), который путем проникновения через клеточную стенку оказывает криозащитное действие на клетку изнутри. Он способствует понижению осмотического давления в клетке в процессе замораживания и размораживания и противодействует осмотическому шоку. Также ДМСО защищает клетку посредством ослабления процессов дегидрирования и сжатия клетки при замораживании. После размораживания ДМСО должен быть сразу удален из суспензии стволовых клеток с помощью процесса отмывки клеток.

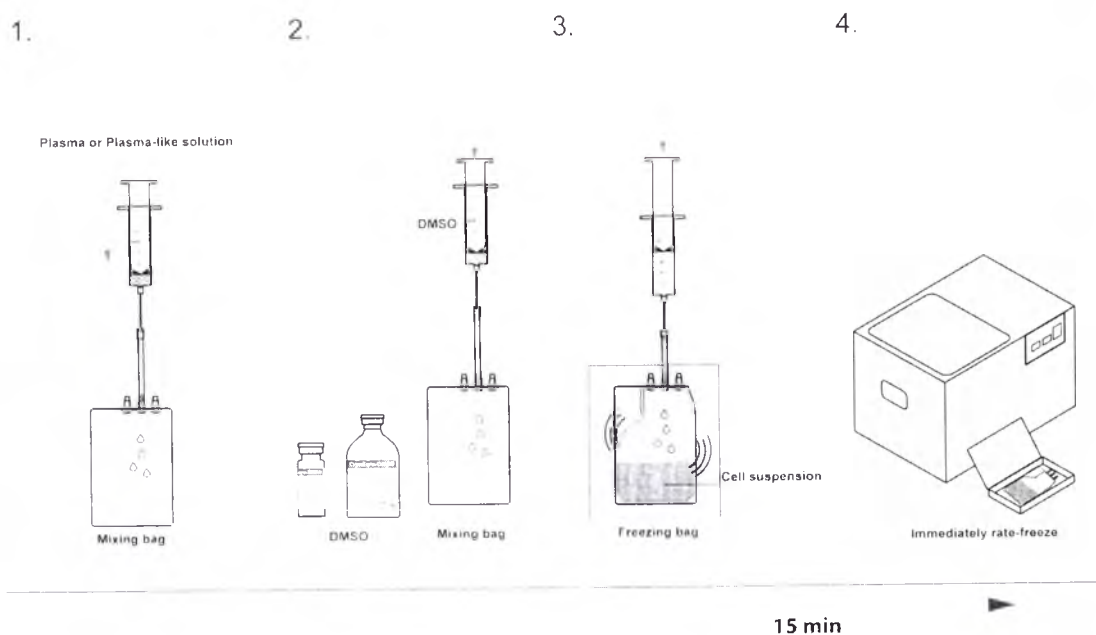
Конечная объемная концентрации ДМСО в суспензии стволовых клеток, подготавливаемых для заморозки, по данным научной литературы составляет от 5 до 10% конечного объема.

До замораживания и после размораживания ДМСО является потенциально цитотоксичным. Его цитотоксичность зависит от концентрации ДМСО, времени воздействия и температуры суспензии стволовых клеток на протяжении всего времени воздействия ДМСО. Поэтому как до замораживания, так и после размораживания температура клеточной суспензии должна поддерживаться на 2°C на протяжении всего времени добавления и удаления раствора CryoSure-DMSO из клеточной суспензии.

Процесс замораживания должен быть начат сразу после добавления всего объема раствора CryoSure-DMSO к конечной суспензии. Аналогично, после размораживания клеточной суспензии необходимо сразу начать процесс отмывки. В случае достаточного охлаждения суспензии стволовых клеток, воздействие ДМСО в незамороженном состоянии не приводит к значительным побочным воздействиям на клетки, при конечной объемной концентрации ДМСО от 5 до 10%. Так как ДМСО является сильным апротонным растворителем, необходимо соблюдение особой осторожности при использовании материалов, соприкасающихся с ДМСО, в процессе отбора ДМСО из флакона и в процессе переноса ДМСО к клеточной суспензии, а также минимизация времени воздействия ДМСО на такие материалы. Все процессы по применению и удалению раствора CryoSure-DMSO должны контролироваться пользователем.

2. Добавление раствора CryoSure-DMSO к суспензии стволовых клеток.

Процесс замораживания должен быть начат сразу после добавления всего объема раствора CryoSure-DMSO к конечной суспензии уменьшенного объема пуповинной крови.



2.1. Определение состава криозащитного раствора и его разбавление.

Одна часть раствора CryoSure-DMSO добавляется, по меньшей мере, к одной части аутологичной плазмы или плазмозамещающего раствора. Некоторые плазмозамещающие растворы указаны в научной литературе, например, водный раствор альбумина человека, гидроксиптилкрахмал, декстран или другие. Пользователь делает выбор и обоснование использования такого раствора.

Криозащитный эффект раствора CryoSure-DMSO зависит от концентрации ДМСО в суспензии клеток после добавления криозащитного раствора. В научной литературе применяемая концентрация ДМСО составляет от 5 и 10% конечного объема.

2.2. Отбор раствора CryoSure-DMSO из флакона и подготовка криозащитного раствора.

Необходимое количество аутологичной плазмы или плазмозамещающего раствора разместить в пригодной для перемешивания емкости. Емкость для перемешивания помещается на ледяную баню (слой льда).

Соответствующее количество раствора CryoSure-DMSO объемным методом отбирают из флакона и добавляют в аутологичную плазму или плазмозамещающий раствор, расположенный в емкости для перемешивания. Во время перемешивания раствора CryoSure-DMSO с аутологичной плазмой или плазмозамещающим раствором выделяется тепло, которое сводится к минимуму посредством ледяной бани. После добавления раствора CryoSure-DMSO полученный раствор охлаждается до 2°C.

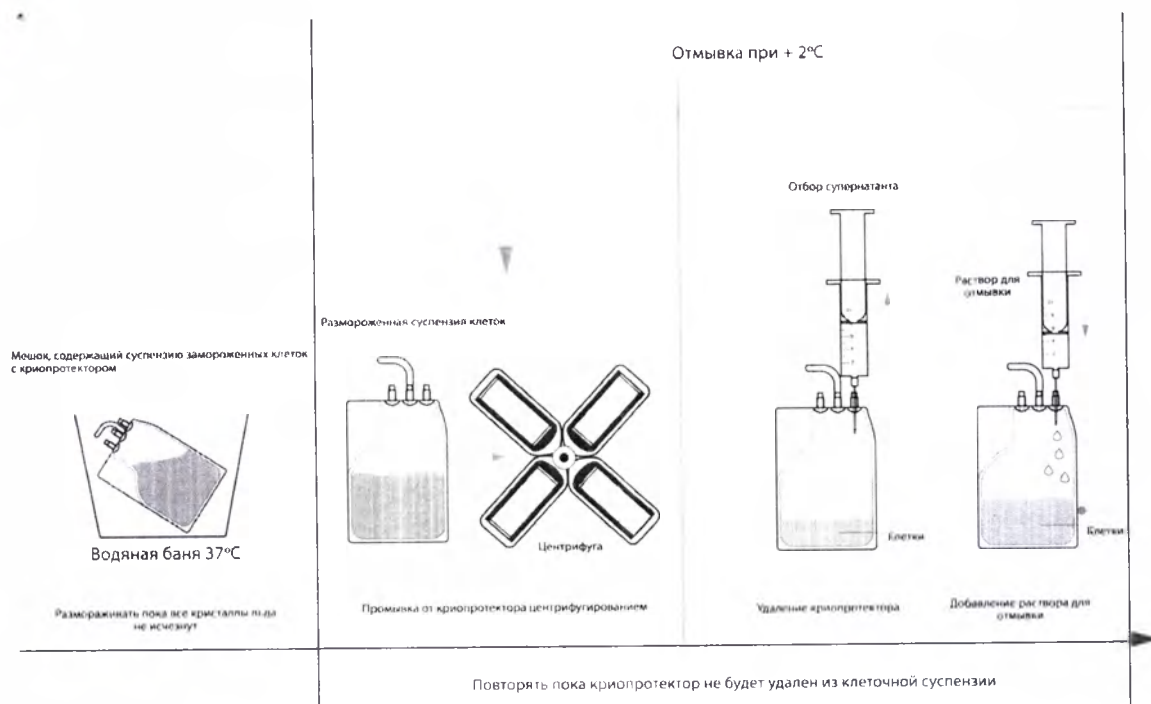
2.3. Добавление криозащитного раствора к суспензии гемопоэтических стволовых клеток.

Перед добавлением раствора CryoSure-DMSO суспензия стволовых клеток помещается на ледяную баню и охлаждается до 2°C. После чего, предварительно охлажденный до 2°C раствор CryoSure-DMSO, объемно добавляется с постоянной скоростью, в течение 15 минут к предварительно определенному объему суспензии стволовых клеток. Для добавления криозащитного раствора предпочтительнее использовать калибровочный шприцевой насос. Замедленное добавление ДМСО-содержащего раствора CryoSure-DMSO обеспечивает осмотическую резистентность гиперосмолярного ДМСО и клеток в конечной суспензии. В процессе добавления конечная суспензия постоянно и равномерно перемешивается, обеспечивая равномерное распределение ДМСО в этой суспензии.

2.4. Начало процесса замораживания.

Процесс замораживания должен быть начат сразу после добавления всего объема раствора CryoSure-DMSO к конечной суспензии. Перед началом процесса замораживания температура суспензии стволовых клеток должна поддерживаться 2°C. Для процесса замораживания должны применяться стандарты, описанные в специальной литературе. В соответствии с описанными данными по скорости замораживания гемопоэтических клеток, скорость замораживания 1°C/минуту должна поддерживаться до достижения температуры хранения.

3. Отбор криозащитного раствора из суспензии стволовых клеток после размораживания



Отмывку суспензии стволовых клеток от криозащитного раствора необходимо проводить сразу после завершения процесса размораживания. Процесс отмывки выполняется в несколько этапов, включающих центрифугирование, отбор жидкого супернатанта и ресуспендирование клеток с соответствующим раствором для промывки. Температура суспензии стволовых клеток должна поддерживаться 2°C в течение всего процесса отмывки до количественного устранения криозащитного раствора из суспензии. Поэтому процесс отмывки необходимо выполнять с помощью центрифуги с охлаждением. Выбор процесса отмывки утверждается пользователем. Выполнение процесса отмывки с помощью закрытых систем возможно несколькими методами.

4. Условия хранения и транспортировки.

Раствор CryoSure-DMSO хранится при температуре 20 - 30°C для того, чтобы поддерживать ДМСО в жидком состоянии, готовом к применению.

Так как температура затвердевания ДМСО 18,3°C, хранение при температуре ниже 20°C может привести к затвердеванию ДМСО. В таком состоянии ДМСО будет неготово к применению. Затвердевание ДМСО - это полностью обратимое состояние, если поместить раствор в температурный режим выше температуры затвердевания. Многократное изменение состояния ДМСО из жидкого в твердое не влияет на качество продукта и функциональные характеристики ДМСО, так как криозащитный раствор применяется только в жидком состоянии.

По данной причине нижние ограничения по температуре хранения могут не поддерживаться во время транспортировки. Поэтому транспортировка с контролем температурного режима не обязательна для раствора CryoSure-DMSO.

Флаконы с раствором CryoSure-DMSO должны храниться в защищенном от прямого попадания прямых солнечных лучей месте. Хранение флаконов в специальной картонной коробке достаточно, чтобы защитить раствор от прямого попадания прямых солнечных лучей.

5. Упаковка и маркировка.

5.1. Первичная упаковка.

Характеристика / Компоненты CryoSure-DMSO, Кат.№: WAK-DMSO-10, WAK-DMSO-50, WAK-DMSO-70	Спецификация / соответствие стандартам
Флаконы из боросиликатного стекла	Стекланные флаконы относятся к I типу стекла, что соответствует стандартам Европейской Фармакопеи, глава 3.2.1 «Стекланные контейнеры для фармацевтического применения»
Пробка из бромбутила, обработанная тефлоном	Пробки из эластомеров соответствуют главе <381> Фармакопеи США «Физикохимические исследования эластомерных уплотнений (пробок)» и главе 3.2 Европейской Фармакопеи «Физикохимические исследования резиновых уплотнений (пробок) для контейнеров, предназначенных для водных растворов для парентерального применения». Тефлоновое покрытие контактирует с внешней стороной пробки флакона

5.2. Вторичная упаковка.

Характеристика / Компоненты CryoSure-DMSO, Кат.№: WAK-DMSO-10, WAK-DMSO-50, WAK-DMSO-70	Спецификация / соответствие стандартам
Вторичная упаковка	Картонная коробка WAK-DMSO-10: 10 флаконов, объемное заполнение 10 ml в каждом WAK-DMSO-50: 6 флаконов, объемное заполнение 50 ml в каждом WAK-DMSO-70: 6 флаконов, объемное заполнение 70 ml в каждом

5.3. Маркировка.

Характеристика / Компоненты CryoSure-DMSO, Кат.№: WAK-DMSO-10, WAK-DMSO-50, WAK-DMSO-70	Спецификация / соответствие стандартам
Маркировка флакона	Соответствует стандартам: DIN EN 1041 и DIN EN 980
Маркировка коробки	Соответствует стандартам: DIN EN 1041 и DIN EN 980

6. Государственные и международные стандарты.

Аспект	Государственные или международные стандарты
Содержимое флаконов: 55 % вес/объем ДМСО	Фармакопейная статья Фармакопеи США для Диметилсульфоксида Фармакопейная статья Европейской Фармакопеи для Диметилсульфоксида
Флаконы	Европейская Фармакопея Глава 3.2.1 «Стекланные контейнеры для фармацевтического применения»
Пробки	Глава 3.2 Европейской Фармакопеи «Физикохимические исследования резиновых уплотнений для контейнеров, предназначенных для водных растворов для парентерального применения» Глава <381> Фармакопеи США «Физикохимические исследования эластомерных уплотнений»
Маркировки и инструкции по применению	DIN EN 1041 «Информация, предоставленная производителем медицинских изделий»
Процесс заполнения в асептических условиях	IN EN ISO 13408 «Процесс асептической обработки изделий медицинского назначения»

7. Требования безопасности.

Не использовать, если раствор помутнел.
Предохранять от попадания прямых солнечных лучей.
Не перестерилизовывать.
Не подвергать паровой стерилизации.
Не для инъекций.
Надевать защитные перчатки.

8. Требования по охране окружающей среды.

Биологически растворимый, не опасен для окружающей среды.
Утилизировать в соответствии с местным регулированием.

08.11.2013 года /подпись/

Флориан Побичка, Доктор медицинских наук, Руководитель отдела контроля качества,
Медицинский директор

Печать компании: ВАК-Хими Медикал ГмбХ
Сименсштрассе, 9, D-61449 Штайнбах/Тс., Германия
Тел.: +49 61 71/28 43 0, Факс: +49 61 71/695646
Электронный адрес: info@wak-chemie.com

Перевод с английского языка на русский язык выполнен мной, Соколовой Людмилой Вячеславовной. Требования к тексту перевода (максимальная точность, перевод всех реквизитов, грамотное изложение, соблюдение терминологии и сокращений и т.п.) мне разъяснены. Принимаю на себя личную ответственность за верность выполненных мною переводов документов. Обязуюсь соблюдать тайну совершения нотариальных действий и сведений, которые стали мне известны в связи с переводом документов.

Подпись

Город Москва.

Тридцатое декабря две тысячи тринадцатого года.

Я, Мозгунова Наталья Сергеевна, нотариус города Москвы, свидетельствую подлинность подписи, сделанной переводчиком Соколовой Людмилой Вячеславовной в моем присутствии. Личность его установлена.

Зарегистрировано в реестре за №

117-5935

Взыскано по тарифу 700 руб.

Нотариус



Всего прошито, пронумеровано и
скреплено печатью 15 лист *ав*

Нотариус

