

Instructions d'utilisation

PAILLETTE CBS™ HAUTE SÉCURITÉ EMBRYON ET SPERME

Pour cryopréservation d'embryons et de sperme

Indications

La paillette CBS™ Haute Sécurité embryon et sperme est spécifiquement conçue pour la cryopréservation au long cours d'échantillons biologiques d'origine humaine, notamment dans l'azote liquide. Fabriquée à partir de matériaux biocompatibles, elle est appropriée aux techniques d'Assistance Médicale à la Procréation et plus spécifiquement à la cryopréservation d'embryons ou de sperme.

Mise en garde

- Bien lire l'intégralité des instructions d'emploi avant d'utiliser la paillette CBS™ Haute Sécurité embryon et sperme.
Le personnel utilisant ce dispositif doit être qualifié, notamment aux Bonnes Pratiques de Laboratoire PMA. Les techniques de cryopréservation et de réchauffement impliquent de multiples étapes qui doivent être réalisées de façon fluide et assurée. Un entraînement à ces procédés sans matériel biologique viable est fortement recommandé afin de parfaire la maîtrise des gestes et éviter tout dommage à l'échantillon biologique à congeler.
- La garantie de la résistance cryogénique des paillettes CBS™ Haute Sécurité dans l'azote liquide dépend du strict respect des instructions d'utilisation des paillettes ainsi que de l'embout de remplissage CBS™ et des équipements et soudeuses CBS citées dans cette notice.

- Pour les États-Unis seulement : la Législation Fédérale assujettit la vente de ce dispositif à la prescription d'un médecin ou d'un praticien formé à son utilisation.

Avertissements

Ce dispositif est à usage unique

- Ne pas utiliser en cas de détérioration de l'emballage et/ou du produit (la stérilité et/ou l'intégrité du produit ne seraient plus garanties). Conserver dans un endroit propre et sec, à l'abri de la lumière et de toute source de chaleur. Il est recommandé de manipuler les paillettes CBS™ Haute Sécurité Embryon et Sperme dans un environnement contrôlé, par exemple sous hotte à flux laminaire.
- Un embout de remplissage stérile pour paillette CBS™ Haute Sécurité (Réf. 024856, Cryo Bio System) doit impérativement être fixé sur la paillette CBS™ Haute Sécurité avant remplissage. Bien suivre les instructions d'utilisation de l'embout pour sa connexion et sa déconnexion.
- Ne pas rincer la paillette CBS™ avec du milieu avant de monter l'échantillon biologique.
- Seules les soudures effectuées avec une soudeuse de type SYMS (Cryo Bio System, France) sont garanties étanches et résistantes à la cryopréservation.

Description

La paillette CBS™ Haute Sécurité embryon et sperme se présente sous forme d'un tube souple transparent en résine ionomère non toxique d'environ 133 mm de longueur et d'environ 2,5 mm de diamètre intérieur, lequel contient un bouchon tressé de sécurité. Conditionnée en sachets de vingt blisters individuels pelables et stérilisée par irradiation La paillette CBS™ Haute Sécurité présente deux parties distinctes séparées par le bouchon tressé qui permet un chargement et une extraction contrôlés avant congélation et après réchauffement de l'échantillon biologique.
Le compartiment le plus grand sur lequel doit être connecté l'embout de remplissage est conçu pour contenir l'échantillon biologique. Son volume utile est d'environ 0,3 mL.
Le second compartiment, plus petit, sert de zone de préhension et d'identification par introduction d'un jonc coloré sur lequel une étiquette autocollante avec code alphanumérique et/ou code barre peut être collée. Après soudure de la paillette, l'identification est intiolable.

Instructions de remplissage, d'identification et de soudure des paillettes CBS™

A. Remplissage :

1. Ouvrir le blister individuel sur toute sa longueur et extraire délicatement la paillette sans en toucher les extrémités afin de prévenir toute contamination.
2. Connecter un embout de remplissage stérile à la paillette, côté échantillon biologique. Remarque : un «clic caractéristique» tactile et/ou auditif assure d'un bon sertissage de la paillette à l'embout de remplissage.



Attention : Ne jamais refouler de milieu après l'avoir aspiré afin d'en prévenir le passage entre l'embout de remplissage et la paillette, et ainsi éviter l'humidification de la zone de soudure.

Cas du sperme :

3. Connecter un micro-aspirateur à molette micro classique (Réf. 014498 Cryo Bio System) ou une seringue équipée d'un adaptateur spécifique (Réf. 016730 et 016731 Cryo Bio System), côté bouchon.
4. Positionner la paillette à un angle d'environ 45° par rapport au produit d'aspiration afin d'optimiser la montée de l'échantillon dans le capillaire de l'embout de remplissage puis dans la paillette.



5. Aspirer le sperme préparé. La colonne d'échantillon biologique doit monter à travers le premier coton jusqu'à l'humectation totale de la poudre polymérisante du centre du bouchon.



6. Aspirer le sperme préparé. La colonne d'échantillon biologique doit monter à travers le premier coton jusqu'à l'humectation totale de la poudre polymérisante du centre du bouchon.

Cas de l'embryon :

Si la paillette est utilisée pour la cryoconservation d'embryon(s), il est impératif d'utiliser un protocole de remplissage selon la technique des deux ou trois colonnes afin de prévenir tout risque d'absorption de l'échantillon par le bouchon.

ser un protocole de remplissage selon la technique des deux ou trois colonnes afin de prévenir tout risque d'absorption de l'échantillon par le bouchon.

Exemple de protocole selon la technique des 2 colonnes :

3. Connecter un micro-aspirateur à molette micro classique (Réf. 014498 Cryo Bio System) côté bouchon.
4. Positionner la paillette à un angle d'environ 45° par rapport au produit d'aspiration afin d'optimiser la montée de l'échantillon dans le capillaire de l'embout de remplissage puis dans la paillette
5. Aspirer doucement une colonne d'environ 17 mm de milieu (0,08 mL). Pour ce faire, utiliser l'embout de remplissage en tant que repère et stopper l'aspiration lorsqu'environ 7 mm de milieu apparaissent dans la paillette, juste après l'embout.
6. Réaliser ensuite une colonne d'air d'environ 10 mm (0,05 mL) en aspirant jusqu'à l'apparition d'air qui émerge dans la paillette, juste après l'embout.
7. Prélever alors le ou les embryon(s) (selon la réglementation en vigueur dans le pays) dans une nouvelle colonne de milieu d'environ 17mm (0,08 mL de milieu) réalisée en stoppant l'aspiration lorsqu'environ 7 mm de milieu apparaissent dans la paillette, juste après l'embout.
8. Continuer par une aspiration d'air en prenant soin de faire progresser la première colonne de liquide jusqu'à l'humectation totale de la poudre polymérisante du centre du bouchon.
9. Il est important que l'embout de remplissage soit complètement vide avant son retrait afin de prévenir toute perte de matériel biologique.

Exemple de protocole selon la technique des 3 colonnes (étapes 3 et 4 identiques au protocole précédent) :

- 5*. Aspirer doucement une colonne de milieu d'environ 10 mm (0,05 mL) : arrêter l'aspiration lorsque le milieu apparaît dans la paillette, juste après l'embout.
- 6*. Réaliser ensuite une colonne d'air d'environ 10 mm (0,05 mL) en aspirant jusqu'à l'apparition d'air dans la paillette, juste après l'embout.
- 7*. Prélever alors le ou les embryon(s) (selon la réglementation en vigueur dans le pays) dans une nouvelle colonne de milieu d'environ 10 mm (environ 0,05 mL). Arrêter l'aspiration

lorsque le milieu apparaît dans la paillette, juste après l'embout.

- 8*. Réaliser une autre colonne d'air d'environ 10 mm (environ 0,05 mL). Aspirer jusqu'à l'apparition d'air dans la paillette, juste après l'embout.
- 9*. Aspirer une dernière colonne de milieu en prenant soin de faire progresser la première colonne de liquide jusqu'à l'humectation totale de la poudre polymérisante du centre du bouchon.

B. Identification et soudure :

Veiller à respecter les indications suivantes afin de ne pas infliger de mouvement brusque ou saccadé à la paillette et prévenir tout risque de rupture des colonnes de milieu.

1. Coller l'étiquette imprimée sur le jonc d'identification.



2. Déconnecter la paillette du dispositif d'aspiration.
3. Retirer avec précaution l'embout de remplissage par un léger mouvement rotatif rétrograde. La zone de soudure doit rester sèche.



4. Introduire l'extrémité de la paillette libérée de l'embout dans le guide de la soudeuse de type SYMS jusqu'à arriver en butée (se référer aux instructions d'utilisation de la soudeuse).
5. Introduire le jonc d'identification à l'intérieur de la paillette.



6. Souder l'autre extrémité comme indiqué précédemment.
7. Vérifier ensuite sous contrôle binoculaire la présence de l'embryon ou des embryons dans la colonne de milieu concernée.

Congélation

Le personnel doit être qualifié à la manipulation de l'azote selon la réglementation en vigueur. L'utilisateur devra impérativement vérifier que la courbe et les conditions de congélation choisies correspondent à l'échantillon biologique à cryopréserver avant d'utiliser l'appareil de congélation, selon le protocole en vigueur dans le laboratoire.

En cas de congélation embryonnaire, le seeding doit être effectué après un temps d'attente idéal (soak time) de 8 à 10 minutes afin que la température souhaitée soit uniformément atteinte dans la paillette. Un contrôle visuel rapide juste après le seeding permet de s'assurer de la formation et de la progression du front de cristallisation dans le liquide.

Respecter dès lors un temps d'attente d'au moins une minute, puis lancer la pente de congélation suivante.

Exemple d'un point de seeding :



Stockage en azote liquide

Les paillettes CBS™ Haute Sécurité embryon et sperme sont protégées des contraintes mécaniques liées à leur stockage en azote liquide grâce à l'utilisation de visotubes, gobelets et canisters CBS™.

Lors des étapes de congélation, de stockage, et d'identification, il est primordial d'assurer le maintien de la chaîne de froid pour garantir l'intégrité de l'échantillon biologique.

Décongélation

Afin de prévenir tout risque de décongélation, veiller à maintenir la partie de la paillette contenant l'échantillon biologique dans l'azote liquide

1. Vérifier l'identification de la paillette recherchée (couleur du jonc d'identification et/ou code alphanumérique et/ou code barre).



2. Extraire délicatement la paillette choisie de son visotube de stockage à l'aide d'une pince et la plonger immédiatement dans un bain-marie (+37°C).

3. Nettoyer et désinfecter la zone d'ouverture de la paillette.



Cas du sperme :

5. Préparer la zone de travail et le récipient de récupération (tube, boîte de Pétri), préalablement identifié conformément à l'identification de la paillette, en fonction de la destination de l'échantillon biologique et du protocole en vigueur dans le laboratoire.
6. Après avoir essuyé et décontaminé la paillette, la vider par capillarité au-dessus du récipient de récupération. Pour cela :
 - couper à l'aide d'un bistouri sec à usage unique ou de ciseaux décontaminés l'extrémité soudée distale par rapport au bouchon,
 - puis couper ou inciser la paillette juste sous le bouchon, en prenant soin de ne pas couper ce dernier

Cas de l'embryon :

5. Couper la paillette côté compartiment d'identification à l'aide d'un scalpel à usage unique ou de ciseaux désinfectés.
6. Ôter le jonc d'identification.
7. Connecter, côté bouchon, soit un micro-aspirateur à molette (Réf. 014498 Cryo Bio System), soit une seringue équipée d'un adaptateur spécifique (Réf. 016730 et 016731 Cryo Bio System) et procéder au vidage de la paillette au-dessus du récipient de récupération (tube, boîte de Pétri), préalablement identifié conformément à l'identification de la paillette.
8. En cas de décongélation embryonnaire, contrôler sous microscope le transfert effectif du matériel biologique dans une boîte de Pétri remplie avec un milieu de réchauffement.

Assurance Qualité

Les paillettes CBS™ Haute Sécurité embryon et sperme sont stérilisées par irradiation. Chaque lot est testé pour MEA et endotoxines.

Péremption

Trois ans à partir de la date de fabrication (voir date indiquée sur l'étiquette).

Élimination après usage

Éliminer ce dispositif conformément aux directives locales en vigueur relatives à l'élimination des déchets médicaux contaminés.

Date de 1er marquage CE : juin 2014



Usage unique



Cf. Notice



Ne pas utiliser si l'emballage est endommagé

Instructions for use

CBS™ HIGH SECURITY EMBRYO AND SPERM STRAW

For cryopreservation of embryos or sperm

Intended use

The CBS™ High Security embryo and sperm straw is designed specifically for the long-term cryopreservation of biological samples of human origin, especially in liquid nitrogen. Manufactured of biocompatible materials, this straw is suitable for use in Assisted Reproduction Technologies and, more particularly, for cryopreservation of embryos or sperm.

Cautions

- The user must read the entire Instructions for Use before using the CBS™ High Security embryo and sperm straw.
- Personnel using this device must be qualified, especially in ART laboratory best practices. Cryopreservation and thawing procedures involve multiple steps that must be done quickly and smoothly. Repeated practice of all steps without viable biological samples is highly recommended to perfect the techniques and avoid harming the biological samples to be frozen.
- Guaranteeing the cryogenic resistance of CBS™ High Security straws in liquid nitrogen depends on strict compliance with the instructions for using the straws as well as those for using the CBS™ filling nozzle and the CBS sealing equipment mentioned in these instructions.
- In the USA only, Federal Law restricts this device to sale by or on the order of a physician or a practitioner trained in its use.

Warnings

- These devices are single-use.
- Do not use if the product or the packaging is damaged (the sterility and/or the integrity of the product can no longer be guaranteed). Store in a clean and dry environment, away from light and heat sources. It is recommended to handle CBS™ High Security embryo and sperm sperm straws in a controlled environment, such as a laminar flow hood.
 - A sterile CBS™ High Security Straw filling nozzle (Ref. 024856, Cryo Bio System) must be fitted to the CBS™ High Security straw before filling. To connect and disconnect the nozzle, follow its Instructions for Use.
 - Do not rinse the CBS™ straw with medium before loading the biological sample.
 - Only thermal seals made with a SYMS type sealer (Cryo Bio System, France) are guaranteed airtight and cryopreservation resistant.

Description

The CBS™ High Security embryo and sperm straw is a flexible, transparent tube made of non-toxic ionomeric resin, approximately 133 mm (5.24 inches) long and approximately 2.5 mm (0.1 inch) in internal diameter, inside which a braided safety plug is inserted. It is packaged and supplied in bags of twenty individual radiation-sterilized peel-off blister packs. The CBS™ High Security straw has two distinct compartments separated by the braided plug that allows for controlled loading and extracting of the sample before freezing and after thawing: The longer compartment, to which the filling nozzle must be connected, is designed to hold the biological sample. It has a volume of approximately 0.3 mL. The second, shorter compartment is for manipulation and for identification through the insertion of a colored identification rod, to which a label with alphanumeric and/or bar code identification can be affixed. After the straw has been sealed, the identification is inviolable.

Instructions for filling, identifying and sealing CBS™ straws

A - Filling

1. Open the blister over its full length and carefully extract the straw without touching the ends to avoid contamination.

2. Connect a sterile filling nozzle to the straw, on the biological sample side.



Note: feeling and/or hearing a characteristic "click" indicates that the filling nozzle has been attached correctly to the straw.

Caution: Never flush medium backwards after aspiration, to prevent it from passing between the filling nozzle and the straw and thus avoid wetting the sealing area.

Use with sperm:

3. Connect a conventional micropipetter (ref. 014498 Cryo Bio System) or a syringe fitted with a special connection tip (refs 016730 / 016731 Cryo Bio System) to the plug side.



4. Hold the straw at an angle of approximately 45° with respect to the product being aspirated, to optimize drawing of the sample into the filling nozzle capillary tube and then into the straw.



5. Aspirate the prepared sperm. The biological sample column must rise through the first cotton plug until the polymerizing powder in the center of the plug has been completely wetted.

Use with embryo(s)

If the straw is used for embryo cryopreservation, it is essential to use a filling protocol with 2 or 3 columns in order to prevent any risk of the sample being absorbed in the plug.

Example of protocol with 2 columns of medium:

3. Connect a conventional micropipetter (ref. 014498 Cryo Bio System) to the plug side.
4. Hold the straw at an angle of approximately 45° with respect to the product being aspirated, to optimize drawing of the sample into the filling nozzle capillary tube and then into the straw.
5. Slowly draw up a column of medium of approximately 17 mm (0.67 inch; 0.08 mL). To do this, use the filling nozzle as a guide and stop aspiration when approximately 7 mm (0.28 inch) of medium appears in the straw, just above the filling nozzle.
6. Create an air bubble of approximately 10 mm (0.4 inch; corresponding to 0.05 mL) by aspirating until the beginning of the air bubble appears in the straw just above the filling nozzle.
7. Load the embryo(s) (depending on the legislation in force in the country of use) in a new column of medium of approximately 17 mm (0.67 inch; 0.08 mL of medium); stop the aspiration when approximately 7 mm (0.28 inch) of medium appears in the straw just above the filling nozzle.
8. Continue by drawing in air, taking care to advance the first liquid column until the polymerizing powder in the center of the plug has been completely wetted.
9. It is important to check that the filling nozzle is completely empty before it is removed, to avoid any loss of biological material.

Example of a protocol with 3 columns of medium (steps 3 and 4 are identical to those of the previous protocol):

- 5*. Slowly aspirate a column of approximately 10 mm of medium (0.4 inch; 0.05 mL); stop aspiration when medium appears in the straw just above the filling nozzle.
- 6*. Create an air bubble of approximately 10 mm (0.4 inch; 0.05 mL); aspirate until the beginning of the air bubble appears in the straw just above the filling nozzle.
- 7*. Load the embryo(s) (depending on the legislation in force in the country of use) with a new column of medium of approximately 10 mm (0.4 inch; approximately 0.05 mL). Stop aspiration when the medium appears in the straw just above the filling nozzle.
- 8*. Create another air bubble of approximately 10 mm (approximately 0.05 mL); aspirate until the beginning of the air bubble appears in the straw just above the filling nozzle.
- 9*. Draw up a final column of medium, taking care to advance the first liquid column until

the polymerizing powder in the center of the plug has been completely wetted.

B. Identification and sealing

Follow the instructions below with care in order to avoid sharp or sudden movements of the straw and any risk of rupturing the columns of medium.

1. Stick the printed label on the identification rod.



2. Disconnect the straw from the aspiration system.
3. Gently remove the filling nozzle from the straw by carefully twisting and pulling it backwards. The sealing area must be kept dry.



4. Introduce the end of the straw from which the filling nozzle has been withdrawn into the SYMS-type sealing device guide as far as it will go (refer to the instructions for using the sealer).
5. Introduce the identification rod inside the straw.



6. Seal the other end, as described above.
7. Check under zoom microscope that the embryo(s) is/are correctly positioned in the column of medium concerned.

Freezing

Personnel must be qualified in nitrogen handling as per the applicable legislation. It is essential to check that the freezing steps and parameters selected are appropriate for the biological sample to be cryopreserved before using the freezing device, in accordance with the protocol in force in the laboratory. When freezing embryos, seeding must be carried out after a soak time of 8-10 minutes to

ensure that required temperature is reached throughout the straw. Carry out a quick visual check immediately after seeding, to monitor the formation and progress of the ice front within the liquid.

Then hold the freezer closed for at least one minute, before triggering the next freezing step. Example of a seeding point:



Storage in liquid nitrogen

CBSTM High Security embryo and sperm straws are protected from the mechanical constraints of being stored in liquid nitrogen by using CBSTM visotubes, goblets and canisters.

The cold chain must always be maintained when carrying out straw freezing, storage and identification procedures in order to ensure the integrity of the biological sample.

Thawing

To prevent any risk of unwanted thawing, ensure that the part of the straw containing the biological sample remains in the liquid nitrogen at all times.

1. Verify the identification of the straw to be thawed (by the color of the internal identification rod and/or its alphanumeric and/or bar code).



2. Carefully extract the selected straw from the visotube in which it is stored with a small forceps and transfer it immediately to a water bath (+37°C).
3. Clean and disinfect the part of the straw that will be opened.
4. Cut the straw end on the biological sample component side, using a single-use scalpel or disinfected scissors.



Use with sperm

5. Prepare the working area and the receptacle (Tube, Petri Dish) previously identified according to the straw, based on the destination of the biological sample and the protocol used in the laboratory.
6. After having wiped and decontaminated the straw, empty it by capillary action on top of the receptacle. For this:
 - Cut with a dry single-use bistouri or decontaminated scissors the distal sealed part (from the plug)
 - Then partially cut or open the straw just below the plug avoiding to cut inside the plug

Use with Embryo(s)

5. Cut the straw on the identification compartment side, using a single-use scalpel or disinfected scissors.
6. Remove the identification rod.
7. Connect, to the plug side, either a micropipetter (ref. 014498 Cryo Bio System), either a syringe fitted with a special connection tip (refs 016730 / 016731 Cryo Bio System) and empty the straw above the recovery recipient (tube, Petri dish), having previously identified it in accordance with the straw.
8. In the case of embryo thawing, use a microscope to check that the biological material has actually been transferred into a Petri dish filled with a warming medium.

Quality assurance

CBS™ High Security embryo and sperm straws are radiation-sterilized. Each batch undergoes MEA and endotoxin testing.

Shelf-life

Three years from date of manufacture (see date stated on the label).

Disposal after use

Please follow specified local regulations for disposal of contaminated medical waste.

Date of first EC marking: June 2014

