

PAILLETTE DE VITRIFICATION HAUTE SÉCURITÉ CBS™

Dispositif de cryopréservation pour vitrification d'embryons tous stades.

Précautions

- Bien lire l'intégralité des instructions d'emploi avant d'utiliser la paillette de Vitrification Haute Sécurité. Les techniques de vitrification et de réchauffement impliquent de multiples étapes qui doivent être maîtrisées afin de les réaliser rapidement. Le personnel utilisant ce dispositif doit être qualifié, notamment aux bonnes pratiques de laboratoire PMA. La formation à l'ensemble de ces étapes sans matériel biologique viable est impérative afin de parfaire la maîtrise des gestes et éviter tout dommage à l'échantillon biologique, toute projection d'azote liquide ou tout réchauffement / refroidissement fortuit et dommageable pour l'échantillon.

- *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.

- La sécurité de la vitrification d'embryons et ses conséquences à long terme sur les enfants nés issus de cette technique n'est à ce jour pas connue.

Avertissements

- *Pour les États-Unis seulement* : La paillette VHS ne doit être utilisée qu'en association avec des milieux de vitrification autorisés aux États-Unis.

- Le volume de la goutte contenant l'échantillon biologique doit être le plus petit possible et ne jamais excéder 0.5µl afin de prévenir tout contact avec la paillette enveloppante.

- La paillette VHS est un dispositif à usage unique indiqué pour la vitrification d'un seul échantillon biologique par paillette.

- Ne pas utiliser le produit si l'emballage est endommagé ou ouvert car la stérilité et l'intégrité du produit ne seraient plus garanties. Ne pas utiliser si l'ensemble jonc / capillaire est tordu / vrillé rendant son introduction dans la paillette difficile ou impossible

- Manipuler dans le respect strict des règles d'asepsie.

- Conserver dans un endroit propre et sec, à l'abri de la lumière et de toute source de chaleur (à une température n'exédant pas 45°C).

- Les paillettes VHS sont conçues pour éviter tout contact entre l'échantillon biologique à vitrifier et l'azote liquide, dans des conditions normales d'utilisation. Respecter néanmoins l'ensemble des procédures relatives à la manipulation d'azote liquide et à la prévention de contamination par l'azote liquide. Le personnel doit être qualifié à la manipulation de l'azote selon la réglementation en vigueur.

Éviter toute éclaboussure d'azote liquide ou toute contamination par aérosol des gouttelettes contenant les échantillons biologiques, des surfaces du dispositif ou

des solutions dans lesquelles les échantillons biologiques seront ultérieurement placés.

Description

Les propriétés physiques et le mode de soudure des paillettes VHS en assurent l'étanchéité à l'immersion et au stockage dans l'azote liquide, sans contact direct de l'échantillon biologique avec l'azote liquide. Après stockage, la paillette VHS est ouverte et la gouttière contenant l'échantillon biologique est immergée dans la solution de réchauffement. Les paillettes VHS sont à usage unique, conditionnées en 4 blisters individuels pelables insérés dans un sachet externe pelable et stérilisés par irradiation. Cet emballage conçu en tant que "double barrière stérile" aide au transfert dans les zones de travail aseptiques.

La paillette de vitrification Haute Sécurité se compose de trois parties distinctes :

- Un ensemble jonc/capillaire aux caractéristiques suivantes : capillaire avec gouttière transparente associé à un jonc de manipulation coloré. La gouttière du capillaire est concave, avec un diamètre interne d'environ 0,7mm. Le jonc coloré de préhension et de manipulation est conçu pour faciliter l'identification (existe en blanc, bleu, rouge, vert, jaune ou rose) et autorise la connexion à un dispositif d'introduction en plastique bleu.

- Un dispositif d'introduction en plastique bleu. L'extrémité du dispositif d'introduction se fixe au jonc de couleur. Il permet d'insérer l'ensemble jonc /capillaire dans la paillette à une profondeur optimale, à environ 1 mm de la butée en résine transparente séparant le compartiment « lest » du compartiment « échantillon biologique » de la paillette.

- La paillette VHS transparente avec une extrémité ouverte évasée et une extrémité soudée. L'extrémité évasée permet une introduction sûre de l'ensemble jonc coloré / capillaire. L'extrémité distale (opposée à l'ouverture évasée) est présoudée et lestée d'un petit jonc en acier inoxydable, isolé du compartiment biologique par une butée en résine transparente. Après introduction de l'ensemble jonc coloré / capillaire, la paillette VHS est thermosoudée à l'aide d'une soudeuse spécifique de la gamme SYMS®.

Matériel nécessaire mais non inclus :

- Soudeuse thermique*
- Pinces
- Pot d'azote liquide (profondeur minimale : 130mm)
- Azote liquide
- Dispositif d'ouverture

* Seule la compatibilité avec les soudeuses thermiques de la gamme SYMS® a été validée.

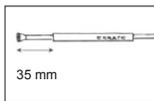
Qualité

Chaque lot de paillettes VHS bénéficie des tests suivants :

- Dosage d'endotoxines par la méthode LAL (<1 EU / unité)

- Test MEA. (> 80% expansés au stade blastocystes à 96h).

Instructions pour le remplissage et la soudure de la paillette VHS



1. Préparer une étiquette d'identification résistante à l'azote liquide pour la paillette VHS d'une

longueur maximum de 40 mm, et la coller à environ 35 mm de son extrémité évasée. Ainsi positionnée, l'étiquette ne couvre ni l'intégralité du jonc coloré, ni la zone en regard de l'échantillon biologique.



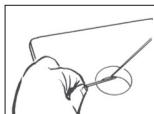
2. Connecter l'extrémité du dispositif d'introduction bleu à l'extrémité du jonc coloré de l'ensemble jonc/capillaire.

Pour ce faire, positionner la pulpe des doigts de préhension très près de l'orifice du jonc d'un côté et très près de la pointe du dispositif de l'autre côté.



3. Préparer l'échantillon à vitrifier selon le protocole du laboratoire en vigueur et les indications du fournisseur de milieux.

Attention : le temps entre le dernier bain de vitrification et l'immersion dans l'azote liquide ne doit pas excéder le délai indiqué par le fournisseur de milieux. vous devez en tenir compte pour la réalisation des étapes 4 à 8.



4. À l'aide d'une micropipette et sous contrôle binoculaire, déposer délicatement l'échantillon biologique prêt à être vitrifié dans la gouttière, à 1 mm minimum de son extrémité distale. Le volume de la goutte contenant l'échantillon biologique doit être le plus petit possible et ne jamais être supérieur à 0,5 µl, notamment pour prévenir tout contact avec la paillette extérieure. La paillette VHS est conçue pour recevoir un échantillon biologique unique.



5. Insérer immédiatement l'ensemble jonc coloré / capillaire dans la paillette VHS par son extrémité évasée et le faire progresser linéairement jusqu'à ce que le corps du dispositif d'introduction arrive au contact de l'extrémité évasée de la paillette.



6. Pincer légèrement la paillette entre le pouce et l'index dans la zone en regard du jonc coloré et déconnecter le dispositif d'introduction.



7. Procéder ensuite à la soudure de l'extrémité ouverte de la paillette avec une soudeuse de la gamme SYMS®. Vérifier l'aspect de la soudure.

Cryoconservation



8. Saisir délicatement la paillette avec une pince au niveau du jonc coloré et la plonger immédiatement, complètement dans l'azote liquide. Maintenir la paillette immergée et lui imprimer des mouvements rotatifs pendant quelques secondes afin d'éviter la formation d'une couche d'air isolante.

Conservation dans l'azote liquide

Le transfert des paillettes vitrifiées du bain de vitrification vers les conteneurs de stockage doit toujours être effectué dans de l'azote liquide afin d'éviter tout réchauffement accidentel et prévenir tout risque de dévitrification non contrôlée.

Réchauffement

Les opérations de réchauffement de l'échantillon doivent être effectuées dans l'environnement contrôlé d'une hotte à flux laminaire.

1. Préparer les milieux de réchauffement et de dilution selon le protocole du laboratoire en vigueur et les indications du fournisseur de milieux.

2. Transférer la paillette sélectionnée à l'aide d'une pince, du récipient de stockage vers un récipient de transport rempli d'azote liquide afin d'éviter tout réchauffement accidentel.



3. À l'aide de la pince, soulever suffisamment la paillette afin d'en exposer le jonc coloré.

Attention, veiller à ce que l'extrémité distale de la paillette où se situe l'échantillon biologique reste toujours plongée dans l'azote liquide y compris lors de l'étape 4.

4. Saisir la paillette entre deux ou trois doigts et la sectionner en regard de la zone du jonc coloré, libre d'étiquette, avec un dispositif d'ouverture. La partie sectionnée de la paillette ôtée, saisir le jonc coloré et extraire l'ensemble jonc/capillaire de la paillette par un mouvement coulissant rétrograde.



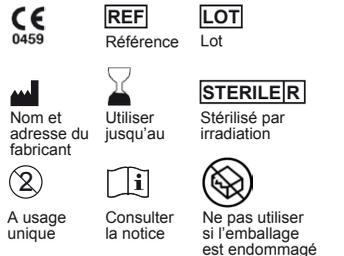
5. Puis plonger horizontalement l'extrémité de la gouttière sans appliquer de pression excessive dans la première goutte de solution de réchauffement (en ayant respecté les volume et température recommandés par le fournisseur de milieux). Lui imprimer quelques mouve-

ments doux afin de s'assurer du transfert effectif de l'échantillon vers la solution.

Élimination après usage

Après récupération de l'échantillon, éliminer le dispositif conformément aux directives locales relatives à l'élimination des déchets médicaux contaminés.


Cryo Bio System
Groupe IMV Technologies
ZI n°1 Est – Rue Robert CASSOU
61300 SAINT OUEN SUR ITON - FRANCE
Tél. +33 (0)233 346 464
Fax +33 (0)233 341 198
www.cryobiosystem-imv.com



Warnings

- For the USA only: HSV straws must only be used in association with United States approved vitrification media.

- The volume of the drop containing the biological sample must be as small as possible and must never exceed 0.5µl in order to prevent any contact with the surrounding straw.

- The HSV straw is a single-use device for the vitrification of a single biological sample per straw.

- Do not use the product if the packaging is damaged or open as the sterility and integrity of the product can no longer be guaranteed.
Do not use if the colored handling rod / gutter is twisted making it difficult or impossible to insert into the straw.

- Use under strict observance of aseptic techniques.

- Store in a clean, dry place, away from light and heat sources (temperature not exceeding 45°C).

- HSV straws are designed to avoid all contact between the biological sample to be vitrified and liquid nitrogen, under normal conditions of use. Nevertheless, all procedures relating to the handling of liquid nitrogen and the prevention of liquid nitrogen contamination should be followed. People should be qualified to LN2 handling according to local regulations.

- *For the USA only:* Federal Legislation restricts the sale of this equipment to a prescription from a doctor or a practitioner trained in its use.

- The safety of embryo vitrification and the long-term consequences for children born as a result of this technique are as yet unknown.

containing the biological samples or surfaces of the device or solutions in which the biological samples will later be placed.

Description

The physical properties and method of sealing HSV straws guarantees that they remain sealed when immersed and stored in liquid nitrogen, with no direct contact between the biological sample and the liquid nitrogen. After storage, the HSV is opened and the droplet containing the biological sample is immersed in the warming solution.

HSV straws are for single usage and are packed in 4 individual peel-off blisters placed in an outer peel-off bag, then sterilized by irradiation. The packaging, designed to provide a "double sterile barrier", facilitates transfers into aseptic working areas.

The HSV high security vitrification straw is made up of three distinct parts:

- A colored handling rod/gutter assembly with the following specifications: Gutter with clear groove combined with a colored handling rod. The groove is concave, with an internal diameter of around 0.7mm. The colored handling rod is designed to facilitate identification (available in white, blue, red, green, yellow and pink) and can be connected to a blue plastic introduction device.

- Blue plastic introduction device. The end of the introduction device attaches to the colored rod. It enables the colored handling rod/gutter assembly to be inserted into the straw to optimum depth,

which is around 1mm from the clear resin plug separating the ballast compartment from the "biological sample" compartment of the straw.

- The HSV transparent straw featuring one open, flared end and one sealed end. The flared end ensures a clean introduction of the colored handling rod/gutter assembly. The distal end (opposite to the flared end) is pre-sealed and weighted with a small tab of stainless steel, separated from the biological compartment by a clear resin plug. After the introduction of the colored handling rod/gutter assembly, the HSV straw is heat sealed using a special sealing device from the SYMS® range.

Essential equipment not included:

- Heat sealing device*
- Tweezers
- Liquid nitrogen container (minimum depth: 130mm)
- Liquid nitrogen
- Opening tool

* Only heat sealing device from the SYMS® range have been approved as compatible.

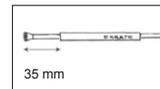
Quality Assurance

Every batch of HSV straws undergoes the following tests:

- Endotoxin level using LAL method (<1 EU/unit)

- MEA test. (> 80% expansion rate to blastocysts in 96 hours).

Instructions for filling and sealing the HSV straw



1. Prepare a liquid -nitrogen resistant identification label for the HSV straw no longer than 40mm, and place it around 35mm from the flared end. Placed in this way, the label will not fully cover the colored rod or the biological sample compartment.



2. Connect the end of the blue introduction device to the colored rod end of the colored handling rod/gutter assembly. To do this, ensure the fingertips are very close to the tab opening on one side and the tip of the tool on the other.



3. Prepare the sample to be vitrified according to current laboratory protocol and the recommendations of the supplier of the medium.

Caution: The time between the final vitrification bath and immersion in liquid nitrogen must not exceed that indicated by the supplier of the medium. This should be taken into account for the execution of steps 4 to 8.



4. Using a micropipette and binocular microscope, carefully place the biological sample to be vitrified into the groove, at least

1mm from the distal end. The volume of the drop containing the biological sample must be as small as possible and can never exceed 0.5 µl, in order to prevent any contact with the surrounding straw. The HSV straw is designed to receive a single biological sample.



5. Immediately insert the colored handling rod/gutter assembly into the HSV straw through the flared end and continue inserting it smoothly until the edge of the introduction device touches the flared end of the straw.



6. Gently pinch the straw between thumb and index finger at the level of the colored rod and disconnect the introduction device.



7. Then seal the open end of the straw using a heat sealing device from the SYMS® range. Check the aspect of sealing.

Cryopreservation



8. Gently hold the straw with tweezers at the level of the colored rod and insert it immediately, vertically and fully into the liquid nitrogen.

Keep the straw immersed, rotating it for several seconds to prevent the formation of an insulating layer of air.

Preservation in liquid nitrogen

The transfer of vitrified straws from the vitrification bath to the storage containers must always be carried out in liquid nitrogen in order to avoid any accidental thawing and prevent any uncontrolled devitrification.

Warming

Sample warming procedures must be carried out in the controlled environment of a laminar airflow hood.

1. Prepare the warming and dilution media according to current laboratory protocol and the recommendations of the media supplier.

2. Using tweezers, transfer the selected straw from the storage container to a transportation container filled with liquid nitrogen in order to avoid any accidental thawing.



3. Using the tweezers, lift the straw sufficiently to expose the colored rod, ensuring that the distal end of the straw, containing the biological sample always remains immersed in the liquid nitrogen, including during step 4.

4. Hold the straw in two or three fingers and cut it open using an opening tool at the level of the colored rod, in a place not covered by the label. Holding the opened

section of the straw, grasp the colored handling tab and remove the colored handling rod/gutter assembly by sliding it out backwards.



5. Next, insert horizontally the end of the groove without excessive pressure in the first drop of warming solution (in compliance with the volume and temperature recommended by the media supplier). Move it around gently to ensure the sample is properly transferred to the solution.

Disposal after use

After retrieving the sample, dispose of this device in compliance with local directives on disposal of contaminated medical waste.

 Cryo Bio System
Groupe IMV Technologies
ZI n°1 Est – Rue Robert CASSOU
61300 SAINT OUVEN SUR ITON - FRANCE
Tel. +33 (0)233 346 464
Fax +33 (0)233 341 198
www.cryobiosystem-imv.com



Manufacturer name and address



Single use



Use by



See Instructions for use



Lot



Do not use if package is damaged