



Instructions d'utilisation de HTF

(Références : GMHT-100, GMHT-250, GMHT-500)

Précautions et Avertissements

- Attention** : d'après la législation fédérale des États-Unis, ce produit ne peut être vendu que par ou sur prescription d'un médecin (ou un autre praticien agréé).
- Attention** : avant d'utiliser le milieu HTF pour la culture d'embryons humains au stade de segmentation (jour 1 à 3), l'utilisateur doit lire et comprendre les instructions d'utilisation, les précautions et les avertissements, et doit être formé sur la procédure correcte à suivre.
- Ne pas injecter
- Ne pas utiliser le produit dans les cas suivants :
 - l'emballage du produit semble endommagé ou le sceau de sécurité a été rompu
 - la date d'expiration est dépassée
 - le produit se décolore, devient trouble ou présente des particules en suspension
- Le milieu HTF contient du sulfate de gentamicine (antibiotique). Il convient de prendre les précautions nécessaires afin de s'assurer que le patient ne présente pas d'allergie à cet antibiotique.
- Pour éviter tout problème de contamination, utiliser des techniques aseptiques.
- Jeter le milieu inutilisé dans les 7 jours suivant son ouverture. Ne pas utiliser après la date d'expiration.

Informations générales

Indications d'utilisation

HTF est destiné à la culture d'embryons humains au stade de segmentation (du jour 1 au jour 3).

Stockage et conservation

Conserver à une température comprise entre 2 et 8 °C, à l'abri de la lumière. À utiliser dans les dix (10) semaines à compter de la date de fabrication. Pour obtenir de meilleurs résultats, utiliser ce produit sous quatre (4) semaines.

Composition

Ce milieu tamponné au bicarbonate et rempli de glucose, de lactate et de pyruvate est requis pour permettre la croissance et le développement d'embryons humains in vitro.

Chlorure de sodium	Chlorure de potassium	Chlorure de calcium	Phosphate de potassium	Sulfate de magnésium
Bicarbonate de sodium	Glucose	Lactate de sodium	Pyruvate de sodium	Rouge de phénol
Sulfate de gentamicine* (10 µg/ml)				

* à partir de matière brute à usage thérapeutique

Contrôle de la qualité

Test

pH (avec équilibrage adéquat en CO₂)

Osmolalité – (mOsM)

Test LAL - Endotoxines

Test de stérilité, filtration sur membrane

Test sur embryon de souris (% de blastocystes après 96 heures de culture)

Spécification

7,2-7,4

280-292

≤ 0.5 UE/ml

Négatif

≥ 80 %



Remarque particulière sur la concentration de CO₂ dans l'incubateur : Dans la plupart des cas, une concentration de CO₂ entre 5 et 7 % dans l'incubateur produira un pH de 7,2 à 7,4 dans le milieu HTF. Toutefois, la concentration exacte de CO₂ nécessaire pour produire un pH optimal égal à environ 7,30 (7,27-7,33) dépend de plusieurs facteurs, notamment les caractéristiques physiques de l'incubateur et l'altitude. Par conséquent, nous recommandons vivement à chaque laboratoire de déterminer et d'utiliser la concentration de CO₂ nécessaire pour produire un pH de 7,30 dans le milieu HTF.

Mode d'utilisation

Les procédures décrites ci-dessous se sont avérées efficaces pour la culture d'embryons humains.

Après chaque ouverture du flacon d'origine, le fermer hermétiquement et le conserver entre 2 et 8 °C, à l'abri de la lumière.

Vingt-quatre (24) heures avant l'utilisation du milieu HTF pour la culture embryonnaire, le mélanger avec la protéine SAH (sérum-albumine humaine) ou le supplément en protéine LifeGlobal[®] afin d'obtenir le % (v/v) souhaité de supplémentation en protéine.

Équilibrage en CO₂ et en température

Méthode 1 : La veille de la culture embryonnaire :

1. Gazer lentement le HTF supplémenté dans un flacon (50 ml) de culture tissulaire pendant environ 15 secondes avec un mélange de gaz 5:5:90 à l'aide d'une pipette Pasteur stérile.
2. Laisser les bulles remonter jusqu'au col du flacon.
3. Refermer le flacon de culture et le placer au réfrigérateur à 2-8 °C. Pendant la nuit, les bulles de gaz vont se disperser dans le milieu et ramener le pH à la valeur appropriée (7,2-7,4).
4. Le jour suivant, 1 heure avant la culture embryonnaire, préparer des microgouttes du HTF supplémenté et gazé, et les placer dans l'incubateur pour l'équilibrage final en CO₂ et en température.

Méthode 2 : La veille de la culture embryonnaire :

1. Préparer des microgouttes de HTF supplémenté dans des boîtes de culture, sous huile. Veiller à ce que les boîtes d'huile aient été équilibrées pendant 48 heures avant de préparer les microgouttes et/ou d'utiliser l'huile d'un flacon ayant été équilibré avec le milieu dans l'incubateur. L'utilisation d'huile équilibrée permet d'atteindre le pH du milieu avant le début de la culture embryonnaire.
2. Placer les boîtes de culture dans l'incubateur pendant la nuit pour l'équilibrage en CO₂ et en température.

Préparation de microgouttes pour la culture embryonnaire du jour 1 au jour 2 ou 3

Méthode 1 : La veille de la culture embryonnaire :

1. Étiqueter le dessous du nombre nécessaire de boîtes de culture avec le nom du patient.
2. À l'aide d'une pipette sérologique, remplir chaque boîte avec l'huile adéquate lavée et à température ambiante.
3. Placer toutes les boîtes dans l'incubateur attribué au patient pour procéder à l'équilibrage pendant la nuit.

Le jour de la culture embryonnaire (jour 1) :

1. Utiliser une pipette ou un embout stérile pour déposer un nombre approprié de microgouttes de 20 à 30 µl de HTF supplémenté dans chaque boîte d'huile équilibrée.
2. Retourner les boîtes (couvercles en bas) et les placer dans l'incubateur pendant 3 à 4 heures.
3. Laver les zygotes et les transférer dans les microgouttes.
4. Placer les boîtes dans l'incubateur attribué au patient afin de les mettre en culture jusqu'au jour 2 ou 3.
5. Évaluer les embryons sur la base des critères et protocoles standard de votre laboratoire.













Méthode 2 : La veille de la culture embryonnaire :

1. Étiqueter le dessous du nombre nécessaire de boîtes de culture avec le nom du patient.
2. À l'aide d'une pipette sérologique, remplir chaque boîte avec l'huile adéquate lavée et à température ambiante. Utiliser une pipette ou un embout stérile pour déposer un nombre approprié de microgouttes de 20 à 30 µl de HTF supplémenté dans chaque boîte d'huile équilibrée.
3. Placer toutes les boîtes dans l'incubateur pour procéder à l'équilibrage pendant la nuit.

Le jour de la culture embryonnaire (jour 1) :

1. Laver les zygotes et les transférer dans les microgouttes.
2. Placer les boîtes dans l'incubateur attribué au patient afin de les mettre en culture jusqu'au jour 2 ou 3.
3. Evaluer les embryons sur la base des critères et protocoles standard de votre laboratoire.

Symboles

	RX Only				
Stérilisation par technique aseptique	Sur prescription uniquement	Référence	Code de lot	Consulter les instructions d'utilisation	Fabricant
					
Tenir à l'abri de la lumière du soleil	Limites de température	Représentant agréé dans la Communauté européenne	Date limite d'utilisation	Conformité européenne (organisme notifié)	