

Application envisagée

Par lavage de granules de spermatozoïdes par gradient de densité de PureSperm, pour les préparations par swim-up, pour l'extension de la durée de vie des spermatozoïdes avant insémination intra-utérine ou comme milieu de conservation

Composants

Chlorure de Sodium	L'eau purifiée
Chlorure de Potassium	Glucose
Sulfate de Magnésium	Lactate de Calcium
Bicarbonate de Sodium	Pyruvate de Sodium
Dihydrogène phosphate de potassium	Citrate de Sodium
Bicarbonate de Sodium	EDTA
hSA sérum albumine humaine	HEPES

Caractéristiques

pH	7,3-8,5
Osmolalité (mOsm/kg H ₂ O)	290-300
Niveaux d'endotoxine	<1,0 EU/ml
Survie du sperme 18 heures après séparation par gradient de densité	>70 %

Les flacons et bouchons sont soumis à un test MEA.

Conservation et stabilité

Conservé les flacons fermés entre 2 et 30 °C, et éviter les températures en-dehors de cette plage. Dans ces conditions, PureSperm® Wash a une durée de conservation de 12 mois. La date d'expiration est indiquée sur les flacons et les cartons.

Ouvrir et fermer les flacons dans des conditions d'asepsie. Après ouverture, conserver entre 2 et 8°C les bouteilles non utilisées. La durée de conservation sur l'étiquette est valable lorsque le produit est conservé conformément aux recommandations du fabricant.

Aucun antibiotique, additif instable ou conservateur n'a été ajouté par le fabricant à PureSperm® Wash.

Précautions et avertissements

- Appliquer toujours des procédures aseptiques.
- Si des seaux scellés sont disponibles, les utiliser pendant la centrifugation pour éviter la création d'aérosols.
- PureSperm® Wash ne présente aucun risque d'incendie ou de combustion. Une fiche de données de sécurité peut être obtenue auprès du distributeur ou du fabricant (voir nidacon.com).
- Ne pas utiliser de solution montrant une contamination bactérienne. Ou si bouchon vient accidentellement en contact avec les surfaces non stériles.
- Ne pas utiliser le contenu si le sceau prouvant l'intégrité est brisé.
- Ne pas réutiliser.
- La Federal Law des Etats-Unis restreint la vente de ce dispositif aux médecins ou sur ordonnance.
- Vérifier la légalité de l'utilisation des produits des techniques de reproduction assistée dans votre pays.

Les mesures habituelles de prévention des infections résultant de la utilisation de médicaments préparés à partir de sang humain ou plasma incluent la sélection des donneurs, le dépistage de l'individu dons et des mélanges de plasma pour des marqueurs spécifiques d'infection et l'inclusion de la fabrication efficace les étapes pour le inactivation/ élimination des virus. Malgré cela, quand médicinales produits préparés à partir de sang ou de plasma humain sont administrés, la possibilité de transmission d'agents infectieux ne peut pas être totalement exclue. Cela vaut également pour inconnus ou émergents les virus et autres agents pathogènes.

Il n'y a pas de rapports de transmissions de virus éprouvées avec de l'albumine fabriqué aux spécifications de la Pharmacopée européenne par des procédés établis.

Il est fortement recommandé que chaque PureSperm® Wash de temps est administré à un patient, le nom et le numéro de lot le produit sont enregistrées afin de maintenir une liaison entre le patient et le lot du produit

le fabricant:

Nidacon, Flöjelbergsgatan 16 B, SE-431 37 Mölndal, Sweden
Tel: +46-31-703 06 30, Fax: +46-31-40 54 15
E-mail: contact@nidacon.com, www.nidacon.com



Procédure Gradient

Recommandations

Préparer deux gradients de PureSperm® pour chaque échantillon de sperme. Ceci réduit le risque de surcharge d'un seul gradient, assure la sécurité lors de la manipulation des tubes ou la récupération des granules de sperme.

Réactifs et équipements

- PureSperm®Wash, PureSperm®40/80 ou PureSperm®100 avec PureSperm®Buffer
- Centrifugeuse avec rotor basculant sur paillasse
- Tubes à centrifuger coniques stériles et jetables
- Pipettes stériles

Procédure de lavage du sperme par gradient de densité

Amener toutes les solutions à température ambiante..

1. À l'aide d'une pipette à pointe stérile, ajouter 2 ml de PureSperm®80 dans un tube à centrifuger conique.
2. Utiliser une autre pipette stérile pour disposer avec précaution 2 ml de PureSperm® 40 en couche sur le PureSperm®80
3. A l'aide d'une pipette Pasteur stérile, disposer soigneusement le sperme liquéfié (jusqu'à 1,5 ml) en couche sur le PureSperm®

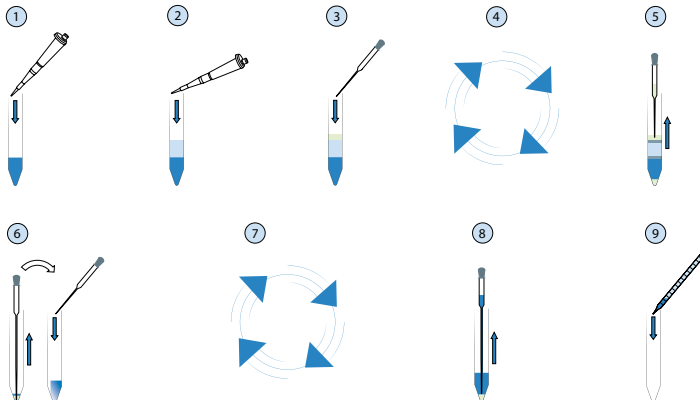
4. Centrifuger à 300 x g pendant 20 minutes. Ne pas utiliser le frein. Calculer la vitesse de rotation correcte pour votre centrifugeuse.
5. À l'aide d'une nouvelle pipette Pasteur stérile, aspirer, dans un mouvement circulaire en surface, tout sauf la granule et 4 à 6 mm de PureSperm®80. Si aucune granule n'est observée après centrifugation, retirer tout le liquide sauf les derniers 0,5 ml.
6. A l'aide d'une nouvelle pipette Pasteur stérile, aspirer la granule (ou les derniers 0,5 ml de liquide). Transférer la granule de sperme dans un nouveau tube et remettre la granule en suspension dans 5 ml de PureSperm®Wash. Combiner deux granules de sperme si vous avez appliqué la double procédure.
7. Centrifuger à 500 x g pendant 10 minutes. Ne pas utiliser le frein. Calculer la vitesse de rotation correcte pour votre centrifugeuse
8. Aspirer le surnageant PureSperm®Wash en laissant le moins de liquide possible au-dessus de la granule. Si aucune granule n'est visible, laisser les derniers 0,25 ml de liquide.
9. Remettre la granule de sperme en suspension dans un volume adéquat de milieu de culture pour obtenir la concentration de sperme requise. L'échantillon de sperme est désormais prêt pour analyse ou utilisation.

Pour atteindre la force correcte g:

$$\text{Rpm} = \sqrt{[(g / (1,118 \times r)) \times 10^3]}$$

r = rayon de rotation, la distance (mm) à partir du centre du rotor au fond d'un tube à centrifuger dans le seau lorsqu'ils sont élevés en position horizontale Par exemple; pour atteindre 300 x g lorsque rayon = 165 mm la vitesse de la centrifugeuse doit être:

$$\text{Rpm} = \sqrt{[(300 / (1,118 \times 165)) \times 10^3]} = 1275$$



Procédure Swim-up

Recommandation

PureSperm®Wash ne contient pas d'antibiotiques. Il est donc recommandé d'ajouter des antibiotiques lors d'une utilisation avec des préparations utilisées dans les techniques de reproduction assistée. (e.g., Penicillin, 100 U/mL).

Equilibrer PureSperm®Wash à température ambiante avant toute utilisation.

Réactifs et équipements

- PureSperm®Wash
- Tubes à centrifuger à fond rond.
- Tubes à centrifuger coniques stériles et jetables (de type Falcon 2075).
- Pipettes stériles.
- Pipettes stériles Pasteur.
- Incubator à CO₂
- Centrifugeuse avec rotor basculant sur paillasse.

Procédure Swim-up

1. À l'aide d'une pipette à pointe stérile, transférer 1 ml de sperme liquéfié dans un tube à centrifuger à fond rond. Si la solution est trop visqueuse, diluer avec PureSperm®Wash avant de la transférer.

2. Utiliser une autre pipette stérile pour disposer avec précaution 1.5 ml de PureSperm®Wash sur le sperme.

3. Sans mélanger les couches, placer le tube à centrifuger et son contenu, penché à 45°, dans un incubateur à 37°C pendant 60 minutes. Le sperme en mouvement migre dans le milieu.

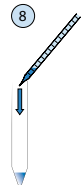
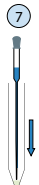
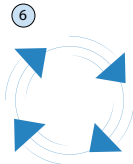
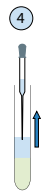
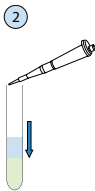
4. Retirer avec précaution les 0.5-1.0 ml supérieurs de milieu contenant le sperme en mouvement à l'aide d'une pipette Pasteur.

5. Placer ce fluide retiré de liquide dans un tube à centrifuger stérile conique.

6. Centrifuger à 500 x g pendant 10 minutes. Ne pas utiliser le frein. Calculer la vitesse de rotation correcte pour votre centrifugeuse

7. Aspirer le surnageant PureSperm®Wash en ne laissant pas plus de 2 mm de liquide au-dessus de la granule.

8. Remettre la granule de sperme en suspension dans un volume adéquat de milieu de culture pour obtenir la concentration de sperme requise. L'échantillon de sperme est maintenant prêt pour analyse ou utilisation.



Commandes

Volume

2x20 ml

100 ml

N° article

PSW-020

PSW-100

Pour de plus amples informations ou une aide, contactez votre distributeur ou le fabricant.



www.nidacon.com

Flöjelbergsgatan 16 B

SE-431 37 Mölndal

Sweden

Tel: +46-31-703 06 30

Fax: +46-31-40 54 15

E-mail: contact@nidacon.com

www.nidacon.com

 **Nidacon**