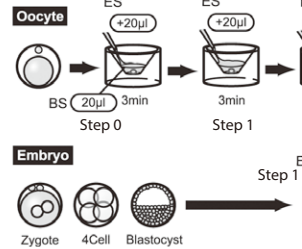


# Vitrification Cryoprotocol for Oocyte and Embryo

Code:VT601, VT602



**EN: Intended use**  
This product is to be used for vitrification of oocytes (MI) and embryos.

**Vitrification Media**  
No. 1 (Color code: white) Basic Solution (BS): 1x1.5 ml vial only for oocyte (MI) vitrification.  
No. 1 (Color code: blue) Equilibration Solution (ES): 1x1.5 ml vial only for oocyte (MI) vitrification.  
No. 2 (Color code: green) Vitrification Solution (VS): 2x1.5 ml vials only for oocyte (MI) vitrification.  
No. 1 (Color code: white) Basic Solution (BS): 1x1.5 ml vial only for embryo (MI) vitrification.  
No. 1 (Color code: blue) Equilibration Solution (ES): 1x1.5 ml vial only for embryo (MI) vitrification.  
No. 2 (Color code: green) Vitrification Solution (VS): 2x1.5 ml vials only for embryo (MI) vitrification.

**Instructions for use (IFU)**  
Preparation  
Fill 90% of the Cooling Rack with fresh liquid nitrogen.  
Use the rack with the thickness of zona pellucida and record it.  
Bring BS, ES and VS to room temperature (23-27°C as recommended).  
Use certified pipette as a handling tool, with a suitable internal diameter for oocytes or embryos.  
The recommended internal diameters are as follows: 120 µm for oocytes (MI), 120 µm for pronuclear stage embryos, 150 to 180 µm for cleavage stage embryos, and 180 to 250 µm for blastocyst stage embryos.

**Oocyte**  
1. Equilibration procedures for Oocyte (MI) and Embryo are different.  
2. Equilibration of oocyte (MI)  
1. Drop 20 µl of BS into first well and each 300µl of VS into second and third well on the Repro Plate with pipette.  
2. Step 0: Transfer the Embryo to the TOP center of the BOTTOM of BS.  
3. Step 1: Immediately add ES 20 µl gently on the TOP of BS of the first well and leave it for 3 minutes.  
4. Add another ES 20 µl gently on the TOP of the first well and leave it for 3 minutes.  
5. Add another ES 240 µl gently on the TOP of the first well and leave it for 9 minutes.

**Embryo**  
1. Drop each 300 µl of ES into first well, VS into second and third well on the Repro plate with pipette.  
2. Step 0: Transfer the Embryo to the TOP center of BS of the culture dish. It will spontaneously begin to shrink and then gradually return to its original size by absorbing the ES solution (within 15 minutes).

**Quality control specification**  
The following tests were performed for each lot of this product:  
Sterility by Sterility Test (EP)  
Endotoxin by LAL method.  
Mouse Embryo Assay (One Cell) pH (EP)  
Osmolality (EP)

**Storage instructions and stability**  
Store the vials at 2 to 8 °C.  
This product is stable until the expiry date labeled on the vial.

**Composition**  
-HEPES with Basic Culture Medium  
-Ethylene Glycol  
-Dimethylsulfoxide  
-Trehalose  
-Hydroxypropyl cellulose  
-Gentamicin

**Contraindications**  
Do not re-sterilize.  
Do not use. Re-use may cause a contamination.  
Do not use solution that shows cloudiness or becomes decomposed.  
Do not use the product if you notice any unusual regarding the solution on the label (number, color, name, volume).  
Morphologically abnormal oocytes, embryos, or significantly poor grade oocytes are unsuitable for cryopreservation.  
Observe all federal, state and local environmental regulations when discarding the product.

**Warning**  
Read the instructions for use prior to use.  
Use the KITAZATO vitrification media to thaw the oocytes (MI) or embryos.  
Appropriate precautions should be taken to ensure that the patient is not sensitized to this antibiotic.  
NOTE: The long-term safety of a cryoprotection technique and maximum storage in liquid nitrogen has not been established and unknown.



Copyright © Kitazato Corporation All Rights Reserved.

**IT: Uso previsto**  
Questo prodotto viene utilizzato per la vitrificazione di ovociti (MI) ed embrioni.

**Terroneo di Vitrificazione**  
No. 1 (Codice colore: bianco) Soluzione Base (BS): 1 fiala da 1,5 ml solo per la vitrificazione degli ovociti (MI).  
No. 1 (Codice colore: blu) Soluzione di Equilibratura (ES): 1 fiala da 1,5 ml solo per la vitrificazione degli ovociti (MI).  
No. 2 (Codice colore: verde) Soluzione di Vitrificazione (VS): 2 fiale da 1,5 ml solo per la vitrificazione degli ovociti (MI).  
Attenzione: Prima dell'uso, controllare le specifiche del contenitore e l'etichettatura (numero contrassegnato sulla parte superiore del tappo, colore del tappo, colore etichetta, fiale, nome soluzione e volume). In caso di anomalie delle parti sopra menzionate, non utilizzare il prodotto e contattare il fornitore.

**Istruzioni per l'uso (IFU)**  
Preparazione  
Riempiere il 90% del cooling rack con azoto liquido.  
Confrontare la larghezza dello spazio perivitellino con lo spessore della zona pellucida e registrare tale misura.  
Portare BS, ES e VS a temperatura ambiente (23-27°C come consigliato).  
Usare una micropipetta sterilizzata come strumento di manipolazione, con un adeguato diametro interno per oociti ed embrioni.  
I diametri interni raccomandati sono i seguenti: 120 µm per oociti (MI), 120 µm per embrioni allo stadio preclivante, da 150 a 180 µm per embrioni in fase di scissione, e da 180 a 250 µm per embrioni allo stadio di blastocisti.

**Oocite**  
1. Equilibratura delle oocite (MI)  
1. Con una micropipetta, versare 20 µl di BS nel primo pozzetto e 300 µl di VS nel secondo e terzo pozzetto del Repro Plate.  
2. Step 0: Spostare l'ovocita (MI) dalla piastrina di cultura al FONDO della BS.  
3. Step 1: Immediatamente aggiungere con cura 20 µl di ES sulla parte SUPERIORE della BS del primo pozzetto. Lasciare agire per 3 minuti.  
4. Aggiungere delicatamente altri 240 µl di ES sulla parte SUPERIORE del primo pozzetto e lasciare agire per 9 minuti.

**Embrione**  
1. Con una micropipetta, versare rispettivamente 300 µl di ES nel primo pozzetto e di VS nel secondo e terzo pozzetto del Repro Plate.  
2. Step 0: Spostare l'embrione sulla parte SUPERIORE centrale della ES della piastrina di cultura.  
3. Step 1: Immergere immediatamente il prodotto in un serbatoio di azoto liquido.  
4. Inserire il Cryotop in un tubo e conservare in un serbatoio.

**Specifiche di controllo qualità**  
Cogni lotto di questo prodotto viene sottoposto ai seguenti test:  
Sterilità mediante test di sterilità (EP)  
Rilevamento di Endotossine mediante il metodo LAL  
Analisi su embrioni di topo (One Cell) pH (EP)  
Osmolalità (EP)

**Istruzioni per lo stoccaggio e la stabilità**  
Conservare le fiale a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C.  
Questo prodotto è integro fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta della fiale.

**Composizione**  
-HEPES in terreno di cultura basico  
-Glicole Etilenico  
-Dimetilossido  
-Trealosio  
-Idrossipropilcellulosa  
-Gentamicina

**Controindicazioni**  
Non sterilizzare.  
Non utilizzare il prodotto se si rischizza può causare contaminazione.  
Non utilizzare soluzioni che appaiono torbide e scolorite.  
Non utilizzare il prodotto se si riscontrano anomalie riguardanti le specifiche sull'etichetta (numero, colore, nome, volume).  
Il prodotto è sterile se la confezione non è aperta e se non è stata contaminata. Non usare se la confezione o il contenitore risultano aperti o danneggiati.

**Avvertenze**  
Prima dell'uso leggere le istruzioni.  
Termini di conservazione: KITAZATO per scongelare gli ovociti (MI) e gli embrioni vitrificati con terreni di vitrificazione KITAZATO.  
Questo prodotto è stato realizzato per essere utilizzato da personale. Non usare questo prodotto in trattamenti per la fertilità.  
Utilizzare tecniche aseptiche.  
Utilizzare solo appropriate contornature e materiali sterilizzati.  
Sciacquare immediatamente gli occhi o la pelle con acqua in caso di contatto con gli ingredienti.  
Ovociti o embrioni morfologicamente anomali, o ovociti o embrioni di scarsa qualità non sono adatti per la crioconservazione.  
In caso di contaminazione, smaltire il prodotto secondo quanto riportato.

Il produttore si assume la responsabilità di eventuali problemi causati dalla non conformità al presente IFU.  
I termini di vitrificazione contengono l'antibiotico gentamicina soffiato. Prendere le appropriate precauzioni per assicurarsi che la paziente non sia sensibilizzata a questo antibiotico.  
NOTE: La sicurezza a lungo termine della tecnica di vitrificazione e la massima conservazione in azoto liquido non sono state stabilite e sono dunque sconosciute.

**FR: Usage prévu**  
Ce produit sera utilisé pour la vitrification des ovocytes (MI) et des embryons.

**Milieu de vitrification**  
No. 1 (Code couleur: blanc) Solution basique (BS): 1x1.5 ml vial (seulement pour vitrification des ovocytes (MI)).  
No. 1 (Code couleur: bleu) Solution d'équilibration (ES): 1x1.5 ml vial.  
No. 2 (Code couleur: vert) solution de vitrification (VS): 2x1.5 ml vials (seulement pour vitrification des ovocytes (MI)).  
Avertissement: Avant utilisation, vérifiez bien les caractéristiques du récipient et l'étiquette (numéro figurant sur le bouchon, couleur du bouchon, couleur de l'étiquette de la fiale, nom de la solution et quantité). Si vous constatez quelque chose d'inhabituel parmi les éléments susmentionnés, veuillez ne pas utiliser le produit et contacter le distributeur.

**Consignes d'utilisation (IFU)**  
Préparation  
Remplir le réservoir de refroidissement à 90% avec de l'azote liquide.  
Comparer la largeur de l'espace périvitellin à l'épaisseur de la zone pellucida puis en prendre note.  
Faire passer BS, ES et VS à température ambiante (23-27°C recommandés).  
Utiliser une micropipette stérilisée pour la manipulation, avec un diamètre interne adapté aux ovocytes et aux embryons.  
Les diamètres internes recommandés sont les suivants: 120 µm pour les ovocytes (MI), 120 µm pour les ovocytes au stade pronucléaire, de 150 à 180 µm pour les embryons en phase de division, et de 180 à 250 µm pour les embryons au stade blastocyste.

**Oocyte**  
1. Équilibration des ovocytes (MI)  
1. À l'aide d'une micropipette, déposer 20 µl de BS dans les premiers puits et 300 µl de VS dans le deuxième et le troisième puits sur la plaque de culture.  
2. Étape 0: Transférer l'ovocyte (MI) de la boîte de Pétri vers le FONDO de la BS.  
3. Étape 1: Ajouter immédiatement et délicatement 20 µl d'ES à la SURFACE de la BS du premier puits et laisser reposer pendant trois minutes.  
4. Ajouter de nouveau 240 µl d'ES à la SURFACE du premier puits et laisser reposer pendant 9 minutes.

**Embryon**  
1. À l'aide d'une micropipette, déposer 300 µl d'ES dans le premier puits, et 300 µl de VS dans le deuxième et le troisième puits sur la plaque de culture.  
2. Étape 1: Déplacer l'embryon de la plaque de culture au centre de la SURFACE de l'ES.  
3. Si le volume spontanément a rétréci avant de retrouver progressivement sa taille normale en absorbant la solution d'ES en 15 minutes.

**Tests de contrôle qualité**  
Les tests suivants ont été réalisés sur chaque lot de ce produit:  
Test de stérilité (EP)  
Endotoxines par méthode LAL  
Tests sur embryons de souris (une cellule) pH (EP)  
Osmolalité (EP)

**Conditions de conservation et stabilité**  
Stocker les tubes entre 2 et 8 °C.  
Ce produit est stable jusqu'à la date de péremption figurant sur la viole.

**Composition**  
-HEPES dans un milieu de culture de base  
-Éthylène glycol  
-Diméthylsulfoxyde  
-Trehalose  
-Hydroxypropyl cellulose  
-Gentamicine

**Contre-indications**  
Ne pas stériliser.  
Ne pas utiliser le produit si on remarque une contamination.  
Ne pas utiliser une solution torbide ou ayant viré au jaune.  
Ne pas utiliser le produit si vous constatez quelque chose d'inhabituel dans les caractéristiques de l'étiquette (numéro, couleur, nom, quantité).  
Si l'emballage ou le récipient n'est pas ouvert et endommagé, ne pas utiliser le produit.  
Après utilisation, les milieux doivent être conservés dans leur récipient et réfrigérés entre 2 et 8 °C.  
Ne pas utiliser et jeter les milieux non soit conservés sous réfrigération (2 à 8 °C).  
Ne pas utiliser le produit après la date de péremption.

**Avvertimenti**  
Lire les consignes avant utilisation.  
Termini di conservazione: KITAZATO per scongelare gli ovociti (MI) e gli embrioni vitrificati con i mezzi di vitrificazione KITAZATO.  
Questo prodotto è stato realizzato per un personale medico specialista adde al trattamento della fertilità.  
Utilizzare tecniche aseptiche dove è utile.  
Utilizzare solo appropriate contornature e di materiali sterilizzati.  
In caso di contatto diretto con gli occhi o la pelle non deve svilupparsi un conveniente per gli ingredienti.  
Ovociti o embrioni anormali dal punto di vista morfologico o con anomalie morfologiche non sono adatti per la crioconservazione.  
In caso di contaminazione, smaltire il prodotto secondo quanto riportato.  
Il produttore si assume la responsabilità di eventuali problemi causati dalla non conformità al presente IFU.

Il produttore si assume la responsabilità di eventuali problemi causati dalla non conformità al presente IFU.  
I termini di vitrificazione contengono l'antibiotico gentamicina soffiato. Prendere le appropriate precauzioni per assicurarsi che la paziente non sia sensibilizzata a questo antibiotico.  
NOTE: La sicurezza a lungo termine della tecnica di vitrificazione e la durata massima di conservazione in azoto liquido non sono state definite e sono dunque sconosciute.

**DE: Verwendungszweck**  
Dieses Produkt ist für die Vitrifikation von Oozyten (MI) und Embryonen bestimmt.

**Vitrifikationsmedien**  
No. 1 (Farbcode: weiß) Basische Lösung (BS): 1x1.5 ml Ampulle (nur zur Vitrifikation von Oozyten (MI)).  
No. 1 (Farbcode: blau) Equilibrationslösung (ES): 1x1.5 ml Ampulle.  
No. 2 (Farbcode: grün) Vitrifikationslösung (VS): 2x1.5 ml Ampullen (nur zur Vitrifikation von Oozyten (MI)).  
Vorsicht: Vor Gebrauch Angaben auf dem Behälter und dem Etikett kontrollieren (auf dem Deckel gekennzeichnete Nummer, Name der Lösung, Farbe des Ampullenetiketts, Bezeichnung und Volumen der Lösungen). Wenn Sie irgendwas Ungewöhnliches bezüglich dieser Punkte feststellen, verwenden Sie das Produkt bitte nicht und kontaktieren Sie die Vertriebsstelle.

**Gebrauchsanweisung**  
Vorbereitung  
Füllen Sie 90% des Kühlracks mit frischem Flüssigstickstoff.  
Vergleichen Sie die Breite des perivitellinen Raums mit der Dicke der Zona pellucida und protokollieren Sie dies.  
Bringen Sie BS, ES und VS auf Zimmertemperatur (23 - 27 °C) empfohlen).  
Benutzen Sie eine sterile Mikropipette mit geeignetem Innendurchmesser für Oozyten oder Embryonen.  
Die empfohlenen Innendurchmesser sind: 120 µm für Oozyten (MI), 120 µm für Embryonen im Vorkernstadium, 150 bis 180 µm für Embryonen im Teilstadium und 180 bis 250 µm für Embryonen im Blastozystenstadium.

**Oocyte**  
1. Füllen Sie mit einer Mikropipette 20 µl BS in die erste Vertiefung sowie jeweils 300 µl VS in die zweite und dritte Vertiefung der Reproplatte.  
2. Schritt 0: Übertragen Sie das Oocyte (MI) aus der Kulturschale auf den BODEN der BS.  
3. Schritt 1: Geben Sie unverzüglich vorsichtig 20 µl ES auf die OBERFLÄCHE der BS in der ersten Vertiefung und lassen Sie es 3 Minuten wirken.  
4. Geben Sie vorsichtig weitere 240 µl ES auf die OBERFLÄCHE der BS in der ersten Vertiefung und lassen Sie es erneut 3 Minuten wirken.  
5. Geben Sie vorsichtig zusätzliche 240 µl ES auf die OBERFLÄCHE der BS in der ersten Vertiefung und lassen Sie es 9 Minuten wirken.

**Embryo**  
1. Füllen Sie mit einer Mikropipette 300 µl ES in die erste Vertiefung sowie jeweils 300 µl VS in die zweite und dritte Vertiefung der Reproplatte.  
2. Schritt 1: Übertragen Sie den Embryo aus der Kulturschale und platzieren Sie ihn in die erste Vertiefung der ES.  
3. Es schrumpft spontan zusammen und kehrt durch Absorption der ES sukzessive zu seiner ursprünglichen Größe zurück (innerhalb von 15 Minuten).  
4. Geben Sie dem Embryo 240 µl ES auf die Oberfläche der ES.  
5. VORSICHT: Die folgenden Schritte 1 bis 9 müssen innerhalb von bis 60 bis 90 Sekunden durchgeführt werden.  
6. Schritt 1: Geben Sie Oocyte (MI) Embryo auf die Spitze einer mit Spitze einer 20 µl Pipette.  
7. Schritt 2: Geben Sie Oocyte (MI) Embryo auf und platzieren Sie sie/ihn in der Mitte der OBERFLÄCHE der VS in der zweiten Vertiefung.  
8. Schritt 3: Geben Sie Oocyte (MI) Embryo auf und platzieren Sie sie/ihn wieder ab. Wiederholen Sie den Vorgang dreimal und verändern Sie dabei ihre/ihre Position in der VS in der zweiten Vertiefung.  
9. Übertragen Sie das Oocyte (MI) Embryo in die VS in der dritten Vertiefung.  
10. Verändern Sie die Position der Oocyte (MI) Embryo in der VS in der dritten Vertiefung mit einer Mikropipette.  
11. Platzieren Sie die Oocyte (MI) Embryo auf dem schwarzen Teil des Cryotop.  
12. Machen Sie die Oocyte (MI) Embryo sichtbar unter einem Mikroskop.  
13. Bergewässern Sie sich unter einem Mikroskop, das die Oocyte (MI) Embryo in dem Cryotop nur mit einem minimalen Volumen der VS (unter 0,1 µl) aus der dritten Vertiefung behält.  
14. Tauchen Sie das Cryotop unverzüglich in Flüssigstickstoff.  
15. Wenn Sie das Cryotop in ein Röhrchen und bewahren Sie es in einem Lagerbehälter auf.

**Qualitätskontrolle**  
Jede Charge dieses Produkts wurde mit folgenden Tests überprüft:  
Sterilität durch Sterilitätstest (EP)  
Endotoxin durch LAL-Methode  
pH (EP)  
Maus-Embryo-Assay (One Cell)  
Osmolalität (EP)

**Aufbewahrungsinstruktionen und Haltbarkeit**  
Lagern Sie die Ampullen bei 2 - 8 °C.  
Das Produkt ist bis zu dem auf dem Ampullenetikett angegebenen Verfallsdatum stabil.

**Zusammensetzung**  
-HEPES in Basismedium  
-Ethylenglykol  
-Dimethylsulfoxid  
-Trehalose  
-Hydroxypropylcellulose  
-Gentamicin

**Warnhinweise**  
Nicht erneut sterilisieren.  
Nicht wiederverwenden. Wiederverwendung kann zu Kontamination führen.  
Verwenden Sie das Produkt nicht, wenn Sie irgendwas Ungewöhnliches bezüglich dieser Punkte feststellen, verwenden Sie das Produkt bitte nicht und kontaktieren Sie die Vertriebsstelle.  
Die Verpackung oder der Behälter nicht geöffnet oder beschädigt sein.  
Die Verpackung oder der Behälter nicht geöffnet oder beschädigt sein.  
Originalbehälter gekühlt bei einer Temperatur von 2 - 8 °C aufbewahrt werden.  
Bitte nicht auf die Haltbarkeit des Produkts vertrauen.  
Bei 2 - 8 °C aufbewahrt werden.  
Das Produkt ist bis zu dem auf dem Ampullenetikett angegebenen Verfallsdatum stabil.

**Vorsichtsmaßnahmen**  
Lesen Sie vor Gebrauch die Gebrauchsanweisungen.  
Verwenden Sie das KITAZATO-Aufbaumittel, um die mit KITAZATO-Aufbaumittel vortestierten Oozyten/Embryonen aufzutauen.  
Dieses Produkt ist nur zur Anwendung durch medizinische Fachkräfte gedacht, die auf Fruchtbarkeitsbehandlungen spezialisiert sind.  
Verwenden Sie das Produkt nicht, wenn Sie irgendwas Ungewöhnliches bezüglich dieser Punkte feststellen, verwenden Sie das Produkt bitte nicht und kontaktieren Sie die Vertriebsstelle.  
Die Verpackung oder der Behälter nicht geöffnet oder beschädigt sein.  
Originalbehälter gekühlt bei einer Temperatur von 2 - 8 °C aufbewahrt werden.  
Bitte nicht auf die Haltbarkeit des Produkts vertrauen.  
Bei 2 - 8 °C aufbewahrt werden.  
Das Produkt ist bis zu dem auf dem Ampullenetikett angegebenen Verfallsdatum stabil.

**Hinweise**  
Die langfristige Sicherheit des Vitrifikationsverfahrens sowie die maximale Aufbewahrungzeit in Flüssigstickstoff wurden bisher noch nicht bestimmt und sind nicht bekannt.

Symbols on the Label		Ver.1
	Sterilized using aseptic processing techniques	
	Do not reuse	
	Catalog number	
	Batch code	
	Use by	
	Storage temperature	
	CE mark	
	Manufacturer	
	Do not re-sterilize	
	Do not use if package is damaged	
	Consult instructions for use	
	Authorized representative in the European Community	

