

ZUR TRENNUNG MOTILER SPERMIIEN AUS SPERMAPROBEN

PRODUKTBEschREIBUNG UND ZWECkBESTIMMUNG

°GRAD ist eine sterile kolloidale Suspension mit Silikat-Partikeln, stabilisiert mit kovalent gebundenen hydrophilen Silanen. Lieferbar als 100% Stammlösung und gebrauchsfertig mit HEPES gepuffertem Human Tubular Fluid (HTF) Medium verdünnt als 40%ige oder 80%ige Lösung. °GRAD100 ist eine Stammlösung zur Herstellung eines Dichtegradientensystems für die Samenpräparation. °GRAD40 und °GRAD80 sind Gradientensysteme für die Samenpräparation.

INHALTSSTOFFE

• Silan-beschichtete Silica • HEPES HTF
Auf Anfrage mit Gentamicin und / oder Phenolrot erhältlich.

PRODUKT-EIGENSCHAFTEN

- Endotoxine: < 0,5 EU/mL • Sterilität: steril (SAL 10⁻³)
- pH: 7,20 - 7,90 (Freigabekriterien: 7,20 - 7,60)
- Dichte: 1,097 - 1,107 g/mL (°GRAD 80 %)
1,115 - 1,125 g/mL (°GRAD 100 %)
< 1,65 cP (°GRAD 80 %)
< 1,75 cP (°GRAD 100 %)
- Osmolalität: 310 - 340 mOsm/kg (°GRAD 40 %)
310 - 340 mOsm/kg (°GRAD 80 %)
300 - 330 mOsm/kg (°GRAD 100 %)
- Spermien-Überlebenstest ≥ 80 % Überlebensrate nach 4 h Exposition von Spermatozoen mit Testmedium.
- Ein Analysezertifikat, MSDS und SSCP sind auf Anfrage erhältlich.

STERILE A Sterilisiert mittels aseptischer Verfahrenstechniken.

KONTRAINDIKATION

Keine bekannten Kontraindikationen.

KONTROLLEN VOR GEBRAUCH

- Nicht verwenden, wenn Anzeichen einer mikrobiellen Kontamination vorhanden sind.
- Bei Verfärbung, Trübung, Niederschlag nicht verwenden.
- Nicht verwenden, wenn das Siegel bei Lieferung beschädigt ist.
- Nicht verwenden, wenn das Haltbarkeitsdatum abgelaufen ist.

GEBRAUCHSANWEISUNG

°GRAD sollte nur seiner Zweckbestimmung entsprechend, von geschultem Personal verwendet werden.

HERSTELLUNG EINES GRADIENTEN

VITROMED empfiehlt die Herstellung eines zweistufigen Gradientensystems (45 % - 90 % oder 40 % - 80 %) ausgehend von °GRAD 100 %. Falls gewünscht kann auch ein Multilayer-Gradient (z. B. 45 % - 70 % - 90 %) erstellt werden.

- ① °GRAD 100 % vor Gebrauch gut schütteln.
- ② Zur Erstellung eines 90 % Gradientenmediums 1 Volumenanteil HEPES-gepuffertes HTF-Medium (z. B. °HEPES PLUS) mit 9 Volumenanteilen °GRAD 100 % mischen.
- ③ Zur Erstellung eines 45 % Gradientenmediums 5,5 Volumenanteile HEPES-gepuffertes HTF-Medium (z. B. °HEPES PLUS) mit 4,5 Volumen-

anteilen °GRAD 100 % mischen.

Hinweis: Alternativ kann auch ein anderes HEPES-gepuffertes, für die Aufarbeitung von Sperma geeignetes Medium für die Erstellung der Gradientenmedien verwendet werden.

- ④ Die Gradientenmedien gut mischen, um homogene Suspensionen zu erhalten.
- ⑤ Folgen Sie für die Trennung von motilen Spermien aus einer Spermprobe den Anweisungen „GRADIENTENSYSTEME FÜR DIE SPERMATRENNUNG“.

Hinweis: Die Gradientenmedien sollten unter hygienischen Bedingungen (LAF ISO Class 5) hergestellt werden. Für optimale Resultate stellen Sie die Gradientenmedien maximal 24 Stunden vor Verwendung her, lagern Sie sie bei 2 - 8 °C und erwärmen Sie die Gradientenstufenmedien eine Stunde vor Verwendung auf Raumtemperatur oder 37 °C.

GRADIENTENSYSTEME FÜR DIE SPERMATRENNUNG

- ① °GRAD vor Gebrauch mittels 5 Flaschendrehungen schütteln.
- ② Alle Komponenten und Proben auf Raumtemperatur oder 37 °C erwärmen.
- ③ 2,5 mL °GRAD 80 % in ein steriles Einweg-Zentrifugenröhrchen füllen.
- ④ Vorsichtig 2,5 mL °GRAD 40 % auf das °GRAD 80 % schichten, ohne die Schichten zu vermischen. Darauf achten, dass eine klare Phasengrenze zwischen den beiden Schichten erhalten bleibt.
- ⑤ Vorsichtig bis zu 2,5 mL verflüssigtes Sperma auf die °GRAD 40 % Schicht pipettieren.
- ⑥ Zentrifugation für 15 - 18 Minuten bei 350 - 400 x g. Achtung: Möglicherweise ist kein Pellet zu sehen. Ist dies der Fall, dann mit einer zweiten Zentrifugation für 3 - 5 Minuten fortfahren.
- ⑦ Den Überstand vorsichtig bis auf 0,3 mL absaugen.
- ⑧ Das Pellet in 2 - 3 mL Waschmedium (z. B. °SPERM WASH) resuspendieren, gut mischen und in ein neues Zentrifugenröhrchen überführen.
- ⑨ Suspension für 8 - 10 Minuten bei 300 x g zentrifugieren.
- ⑩ Den Überstand absaugen und Schritte 8 und 9 wiederholen.
- ⑪ Den Überstand absaugen und das Pellet im gewünschten Volumen Waschmedium (z. B. °SPERM WASH) resuspendieren.
- ⑫ Die Probe ist nun fertig für die weitere Verwendung.

Hinweis: Hochviskose Proben können bis zu maximal 500 x g zentrifugiert werden. Vermeiden Sie die angegebene Zentrifugalkraft zu überschreiten.

LAGERUNG UND HALTBARKEIT

- °GRAD bei 2 °C bis 8 °C lagern.
- Vor Gebrauch nicht einfrieren.
- Im Originalbehälter belassen.
- Nach dem ersten Öffnen soll das Medium maximal 7 Tage verwendet werden, vorausgesetzt, dass unter aseptischen Bedingungen in einer sterilen Umgebung gearbeitet und das Produkt bei 2-8 °C gelagert wird.
- Die Haltbarkeit des Produktes bleibt bei einem Transport (max. 5 Tage) mit erhöhter Temperatur (≤ 37 °C) bestehen.
- Vor direkter Sonneneinstrahlung schützen.

WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

Nicht steril nach dem Öffnen. Nicht resterilisieren. Nicht zur Wiederverwendung. Bei Mehrfachgebrauch besteht die Gefahr einer Kreuzkontamination. VITROMED empfiehlt den Umgang mit Medien nur mit aseptischen Techniken (z. B. in einer Laminar-Flow-Arbeitsbank, ISO-Klasse 5). Verwenden Sie kein Medium das Partikel, Trübungen oder Verfärbungen zeigt. Minimale Mengen von überschüssigen Medien in der Flasche müssen entsorgt werden. Alle Proben sind so zu handhaben, als ob sie HIV oder Hepatitis übertragen könnten. Beim Umgang mit Proben ist stets Schutzkleidung zu tragen. °GRAD enthält Gentamicin (je nach Produktvariante). Bitte entsprechende Vorsichtsmaßnahmen ergreifen, um sicherzustellen, dass der Patient nicht sensibilisiert gegenüber diesem Antibiotikum ist (allergische Reaktion). Nur für den bestimmungsgemäßen Gebrauch. Die Entsorgung darf nur entsprechend den geltenden Bestimmungen für Abfallprodukte vorgenommen werden.

FEEDBACK UND MELDEPFLICHT

Danke, dass Sie sich für den Kauf unseres Produkts entschieden haben. Wenn Sie Vorschläge zur Verbesserung unserer Produkte haben, senden Sie diese bitte an qc@vitromed.com. Melden Sie alle schwerwiegenden Vorfälle, die mit dem Produkt aufgetreten sind, unverzüglich per E-Mail an qc@vitromed.com und der zuständigen Behörde des Mitgliedstaats, in dem der Anwender und/oder der Patient niedergelassen ist.

ENGLISH

FOR SEPARATION OF MOTILE SEMEN FROM SPERM SAMPLES

PRODUCT DESCRIPTION AND INTENDED USE

°GRAD is a sterile colloidal suspension of silica particles stabilized with covalently bound hydrophilic silanes. Available as 100% stock solution and diluted in HEPES buffered Human Tubal Fluid (HTF) medium as 40% or 80% solution. °GRAD100 is a stock solution for preparing a density gradient system for semen preparation. °GRAD40 and °GRAD80 are gradient systems for semen preparation.

COMPOSITION

• Silane-coated Silica • HEPES HTF
Gentamicin and/or Phenol Red can be added upon request.

PRODUCT SPECIFICATIONS

- Endotoxins: < 0.5 EU/mL • Sterility: sterile (SAL 10⁻³)
- pH: 7.20 - 7.90 (Release criteria: 7.20 - 7.60)
- Density: 1.097 - 1.107 g/mL (°GRAD 80 %)
1.115 - 1.125 g/mL (°GRAD 100 %)
< 1.65 cP (°GRAD 80 %)
< 1.75 cP (°GRAD 100 %)
- Viscosity: 310 - 340 mOsm/kg (°GRAD 40 %)
310 - 340 mOsm/kg (°GRAD 80 %)
300 - 330 mOsm/kg (°GRAD 100 %)
- Human Sperm Survival Assay tested ≥ 80% survival after 4 h exposure of spermatozoa to the test medium.
- A certificate of analysis, MSDS and SSCP are available upon request.

STERILE A Sterilized using aseptic processing techniques.

CONTRAINDICATION

No known contraindication.

PRE-USE CHECK

- Do not use the product if any signs of microbial contamination are noticed.
- Do not use if discoloured, turbid or a precipitate is observed.
- Do not use if seal of the container is damaged upon delivery.
- Do not use if the expiry date has been exceeded.

INSTRUCTIONS FOR USE

°GRAD should be used only for its intended purpose by qualified and trained persons.

PREPARATION OF GRADIENTS

VITROMED advises to prepare a dual gradient system (45% - 90% or 40% - 80%) starting from °GRAD 100%. If preferred a multi-layer gradient can also be used (e. g. 45% - 70% - 90%).

- ① Mix °GRAD 100% thoroughly before use.
- ② Prepare a 90% gradient medium by mixing 1 part HEPES buffered HTF medium (e. g. °HEPES PLUS) to 9 parts °GRAD 100%.
- ③ Prepare a 45% gradient medium by mixing 5.5 parts HEPES buffered HTF medium (e. g. °HEPES PLUS) to 4.5 parts °GRAD 100%.

Note: Alternatively, any HEPES-buffered medium that is recommended for sperm preparation can be used for the preparation of the gradient media.

- ④ Mix well to get homogeneous solutions.
- ⑤ Follow the instructions „DENSITY GRADIENTS FOR SPERM SELECTION“ in order to use the prepared density gradient media for sperm selection.

Note: Gradient media should be prepared under sterile conditions (e. g. LAF bench ISO Class 5). For optimal results, prepare the gradient media a maximum of 24 hours prior to use, store at 2 - 8 °C and warm gradients to room temperature or 37 °C one hour before use.

DENSITY GRADIENTS FOR SPERM SELECTION

- ① Mix °GRAD bottles by 5 bottle inversions before use.
- ② Warm up all components and samples to room temperature or 37 °C.
- ③ Transfer 2.5 mL of °GRAD 80% into a sterile disposable centrifuge tube.
- ④ Carefully layer 2.5 mL of °GRAD 40% on top of the °GRAD 80% layer, without disturbing the phase interface. Pay attention that the two layers stay distinctly separated.
- ⑤ Gently place up to 2.5 mL of liquefied semen on top of the °GRAD 40% layer.
- ⑥ Centrifuge for 15 - 18 minutes at between 350 and 400 x g. Warning: Should a pellet not be visible after the initial centrifugation step, perform a second centrifugation step for 3 to 5 minutes.
- ⑦ Remove the supernatant leaving approximately 0.3 mL of fluid above the pellet.
- ⑧ Add 2 - 3 mL of sperm washing medium (e. g. °SPERM WASH), resuspend the pellet and transfer to a new centrifuge tube.
- ⑨ Centrifuge for 8 - 10 minutes at 300 x g.
- ⑩ Remove the supernatant and repeat steps 8 and 9.
- ⑪ Remove the supernatant and resuspend the pellet in the desired volume of sperm washing medium (e. g. °SPERM WASH).
- ⑫ The sample is now ready for use.

Note: For highly viscous samples centrifuge at up to 500 x g. Take care not to exceed this centrifugal force.

STORAGE INSTRUCTIONS AND STABILITY

- Store V^{GRAD} between 2 °C to 8 °C.
- Do not freeze before use.
- Leave product in its original packaging.
- V^{GRAD} should be used for a period of up to 7 days after opening, provided that it is handled under aseptic conditions and the products are stored at 2-8°C.
- The shelf life of the product is maintained after transport (max. 5 days) at higher temperatures (≤ 37 °C).
- Keep away from sunlight.

WARNING AND PRECAUTIONS













Not sterile after opening. Do not re-sterilize. Do not reuse. Multiple use may lead to cross-contamination. VITROMED recommends only handling of media with aseptic techniques (e. g. LAF-bench ISO Class 5). Do not use medium that shows any evidence of particulate matter, is cloudy, or has changed colour. Discard minimal amounts of excess medium remaining in the bottle. Handle all samples as if capable of transmitting HIV or hepatitis. Always wear protective clothing when handling samples. V^{GRAD} contains gentamicin (depending on the product variant), appropriate precautions should be taken to ensure that the patient is not sensitized to this antibiotic (allergic reaction). Only for intended use. Disposal may only be carried out in accordance with the regulations for waste products.

FEEDBACK AND OBLIGATION TO INFORM

Thank you for purchasing our product. If you have any suggestions for us to improve our products, please send them to qc@vitromed.com. Report any serious incidents that have occurred with the product immediately by email to qc@vitromed.com and the competent authority of the Member State in which the user and/or patient is established.


SYMBOL GLOSSARY

(ISO 15223-1:2016 Medical devices - Symbols to be used with medical device labels, labelling and information to be supplied - Part 1: General requirements)

SYMBOL (reference number)	TITLE OF SYMBOL
 (5.1.1)	Hersteller Manufacturer
 (5.1.4)	Verfallsdatum Use-by date
 (5.1.5)	Chargennummer Batch code
 (5.1.4)	Katalognummer Catalog number
 (5.2.2)	Sterilisiert mittels aseptischer Verfahrenstechniken Sterilized using aseptic processing techniques
 (5.2.8)	Nicht verwenden, wenn Packung beschädigt Do not use if package is damaged
 (5.3.2)	Vor Sonnenstrahlen schützen Keep away from sunlight
 (5.3.7)	Bei 2 – 8 °C lagern Store at 2 – 8 °C temperature limits
 (5.4.2)	Nicht zur Wiederverwendung Do not reuse
 (5.4.3)	Gebrauchsanweisung beachten Consult instructions for use
	Medizinprodukt Medical Device
	Eindeutige Produktkennung Unique Device Identifier

 0344 Medical Device Directive 93/42/EEC

DE / EN

	
Stück pro VE / Piece per unit	REF
1 x 100 mL Glas-Flasche / glass bottle V^{GRAD} 100%	V-GRD00_100G
1 x 100 mL PETG-Flasche / PETG bottle V^{GRAD} 100%	V-GRD00_100P
1 x 100 mL Glas-Flasche / glass bottle V^{GRAD} 80% **	V-GRD83_100G
1 x 100 mL PETG-Flasche / PETG bottle V^{GRAD} 80% **	V-GRD83_100P
1 x 100 mL Glas-Flasche / glass bottle V^{GRAD} 40% **	V-GRD43_100G
1 x 100 mL PETG-Flasche / PETG bottle V^{GRAD} 40% **	V-GRD43_100P
4 x 12 mL Glas-Flasche / glass bottle V^{GRAD} 80% und/and 40%**	V-GRD4_12

* Erhältlich mit und ohne Additiven (Phenolrot, Gentamicin) und unterschiedlichen Volumina / Available with and without additives (phenol red, gentamicin) and different volumes
** Mit Phenolrot und Gentamicin / With phenol red and gentamicin



Technischer Support **VITROMED GmbH**
Technical support Hans-Knöll-Str. 6
07745 Jena
Germany

+49 36 41 . 5 39 19 76
support@vitromed.com
www.vitromed.com

Stand der Informationen 26.08.2021
Date of information

Weitere Sprachen unter www.vitromed.com
Further languages at