IrvineScientific

ISolate
Stock Solution

Catalog No. 99275 **100 mL**

REFERENCES

Adaniya GK, Jackson KV: *Comparison of Percoll® and ISolate in the Preparation of Semen for use in Assisted Reproductive Technologies*. 53rd Annual Meeting of the American Society for Reproductive Medicine, Cincinnati, Ohio; 0-113, 1997.

Tarchala SM, Fahy MM, Hauserman HM, Kallmann K, Volentine K, Radwanska E, Binor Z, Molo MW, Rawlins RG: *ISolate As a New Method of Sperm Separation*. 53rd Annual Meeting of the American Society for Reproductive Medicine, Cincinnati, Ohio; P-116, 1998.

Miller, KF, Fry KL, Arciaga RL, Falcone T: *Semen preparation for in-vitro fertilization using ISolate results in sperm recovery, fertilization and pregnancy outcomes that are indistinguishable from those obtained with Percoll®*. 14th Embryology, Goteborg, Sweden; P-116, 1998.

Tarchala SM, Volentine KK, Rawlins RG: *A comparison of sperm processing using ISolate and Pure Sperm™*. 14th Annual Meeting of the European Society of Human Reproduction and Embryology, Goteborg, Sweden; R-041, 1998.

Glossary of Symbols*:

REF	Catalog Number
LOT	Lot Number
STERILE A	Sterilized using aseptic processing techniques (filtration)
	Expiration: Year - Month - Day
	Caution, consult accompanying documents
	Consult instructions for use
2°C 8°C	Storage Temperature 2-8°C
	Do not re-use
2 STERILIZE	Do not resterilize
	Do not use if package is damaged
	Manufacturer
Rx Only	U.S. Caution: Federal law restricts this device to sale by or on the order of a licensed healthcare practitioner.
CE 0050	CE Mark
EC REP	Emergo Europe - Westervoortsedijk 60 6827 AT Arnhem The Netherlands

*Symbol Reference - **EN ISO 15223-1**, Medical devices – Symbols to be used with medical device labels, labeling.

Irvine Scientific, LLC
1830 E. Warner Ave., Santa Ana, California 92705-5588 USA
Telephone: 1 949 261 7800 • 1 800 437 5706 • Fax: 1 949 261 6522 • www.irvinesci.com

PN 41140 Rev. 03
Effective Date: 24-FEB-2025

ENGLISH

EU Caution: For Professional Use Only.

INDICATION FOR USE:

ISolate is intended for assisted reproductive procedures that involve the manipulation of human sperm. ISolate is intended for the separation of the motile fraction of sperm from seminal fluid.

DEVICE DESCRIPTION

ISolate is a density gradient medium designed to separate the motile fraction of sperm from seminal fluid. As a two layer gradient system, it effectively reduces cellular contaminants such as dead sperm, white blood cells and miscellaneous debris. The resulting sample contains predominantly motile sperm.

COMPOSITION

Salts and Ions	Energy Substrate
Sodium Chloride	Glucose
Potassium Chloride	Sodium Pyruvate
Magnesium Sulfate	Sodium Lactate
Potassium Phosphate	
Calcium Chloride	Other
	Colloidal Suspension of Silica Particles
Buffer	
Sodium Bicarbonate	
HEPES	

QUALITY ASSURANCE

ISolate is a membrane filtered, aseptically processed colloidal suspension of silica particles stabilized with covalently bound hydrophilic silane in HEPES-buffered HTF. The sterility assurance level (SAL) is 10^{-3}. ISolate is tested and found negative for pyrogens by rabbit pyrogen test.

DIRECTIONS FOR USE

Catalog #99275 - STOCK SOLUTION

90% density gradient medium for use in a one-step procedure or for further dilution.

A. Materials Suggested:
ISolate Stock Solution
• Irvine Scientific, LLC Catalog #99275
Modified Human Tubal Fluid
• Irvine Scientific, LLC #90126
Sperm Washing Medium
• Irvine Scientific, LLC Catalog #9983
Centrifuge
• Irvine Scientific, LLC Catalog #IS-300
Sterile, disposable conical centrifuge tubes
Pasteur Pipettes, sterile
Incubator, 37°C

B. Gradient Preparation:
Two solutions are required to perform the gradient sperm separation method: An upper layer and a lower layer.
1. Upper Layer solution - 50%:
   a) Take STOCK SOLUTION (Catalog #99275) and pipette 5.6 ml into a sterile centrifuge tube
   b) Add 4.4 mL of Modified Human Tubal Fluid (Catalog #90126)
   c) Cap tube and invert gently 3-4 times to allow for complete mixing
   d) Label tube as "UPPER LAYER"
2. Lower Layer solution - 90%:
   a) Aliquot 10 mL of the STOCK SOLUTION into a sterile centrifuge tube and cap - (No further dilutions necessary - Stock Solution is 90%)
   b) Label tube as "LOWER LAYER"
3. Continue to GENERAL PROCEDURE section of product insert. (NOTE: 10 mL Upper Layer and 10 mL Lower Layer will process approximately 5 semen samples.)

Note: The terms 50% and 90% do not represent an actual concentration. The 50% and 90% are relative concentrations based on the previous nomenclature that defined a 1:9 dilution of Percoll® as equal to a 100% working, isotonic solution.

GENERAL PROCEDURE

The following is a general procedure for a two-step gradient separation of motile sperm from semen. The volume and concentration can be modified to meet each laboratory's preference (i.e. mini-gradient, cryopreserved semen, three-layer gradient).

1. Bring all media components to room temperature or 37°C.
2. Using a sterile pipette, transfer 1.5 - 2.0 mL of the "LOWER LAYER" into a sterile, disposable, conical centrifuge tube.
3. Using a new sterile pipette, transfer an equal volume of "UPPER LAYER" on top of the "LOWER LAYER". This is done by contacting the surface of the "LOWER LAYER" at the side of the tube with the tip of the pipette. Carefully dispense the "UPPER LAYER" by spiraling the pipette tip around the circumference of the tube in an upward motion as the level of the "UPPER LAYER" rises.
4. Gently place 1.5 - 2.0 mL of liquefied semen onto the "UPPER LAYER" using a new sterile pipette.
5. Centrifuge for 10-20 minutes at approximately 200 - 300 x g.* Carefully expose the pellet by either aspirating off the "UPPER" and "LOWER LAYERS", or directly removing the pellet and transferring to a new sterile centrifuge tube.
   Note: The quality of the sperm sample should be evaluated and taken into consideration when determining the proper centrifugation speed and time. These should be adjusted according to the individual specimen quality for optimization of the procedure.
6. Using a new sterile pipette, add 2.0 - 3.0 mL of appropriate washing medium such as Sperm Washing Medium (IS Catalog #9983) or Modified HTF (IS Catalog #90126) with protein supplementation. Resuspend the isolated pellet. Centrifuge (~200xg) for 8 -10 minutes and remove the supernatant. Repeat this step for a second wash. Discard the supernatant and resuspend the pellet using a suitable volume of appropriate medium. The sample is now ready for analysis.

For additional details on the use of these products, each laboratory should consult its own laboratory procedures and protocols which have been specifically developed and optimized for your individual medical program.

STORAGE INSTRUCTIONS AND STABILITY

Store the unopened containers refrigerated at 2° to 8°C.

Warm to ambient or incubator (37°C) temperature prior to use.

Do not freeze or expose to high temperatures.

ISolate is stable until the expiration date shown on the box and bottle labels when stored as directed.

PRECAUTIONS AND WARNINGS

This device is intended to be used by staff trained in assisted reproductive procedures. These procedures include the intended application for which this device is intended.

The user facility of this device is responsible for maintaining traceability of the product and must comply with national regulations regarding traceability, where applicable.

ISolate will appear opaque. This is normal for this product. Do not use any vial of medium which shows evidence of particulate matter or contamination (nonuniform cloudiness).

ISolate should be tightly capped when used in a CO_2 incubator to avoid pH changes.

Information on known characteristics and technical factors that could pose a risk if the product were to be re-used have not been identified therefore the product is not to be used following the initial use of the container.

In case of damage, do not use. Please discard or return to Manufacturer for replacement.

DEUTSCH

EU-Vorsichtshinweis: Nur für den professionellen Einsatz.

INDIKATIONEN

ISolate ist für assistierte Reproduktionsverfahren vorgesehen, die die Manipulation von menschlichem Sperma umfassen. ISolate ist für das Separieren der motilen Spermienfraktion von der Seminalflüssigkeit vorgesehen.

PRODUKTBESCHREIBUNG

ISolate ist ein Dichtegradientenmedium für das Separieren der motilen Spermienfraktion von der Seminalflüssigkeit. Als zwei Schichten umfassendes Gradientensystem reduziert es in effektiver Weise zelluläre Kontaminanten, wie bspw. tote Spermien, Leukozyten und verschiedenen Debris. Die resultierende Probe enthält vorwiegend motile Spermien.

ZUSAMMENSETZUNG

Salze und Ionen	Energiesubstrat
Natriumchlorid	Glukose
Kaliumchlorid	Natriumpyrovat
Magnesiumsulfat	Natriumlactat
Kaliumphosphat	
Calciumchlorid	Andere
	Kolloidsuspension aus Silicium dioxid- Partikeln
Puffer	
Natriumbicarbonat	
HEPES	

QUALITÄTSSICHERUNG

ISolate ist eine membrangefilterte, aseptisch verarbeitete Kolloidsuspension aus mit kovalent gebundenem hydrophilem Silan stabilisierten Siliciumdioxid-Partikeln in HEPES-gepufferter HTF. Der Sterilitätssicherheitswert (Sterility Assurance Level, SAL) beträgt 10^{-3}. ISolate wurde mit einem Kaninchen-Pyrogentest im Hinblick auf Pyrogene getestet und für negativ befunden.

GEBRAUCHSANWEISUNG

Bestell-Nr. 99275 – STOCK SOLUTION

90%iges Dichtegradientenmedium zum Gebrauch bei einem Einstufen-Verfahren oder zur weiteren Verdünnung.

A. Empfohlene Utensilien:
ISolate Stock Solution
• Irvine Scientific, LLC Bestell-Nr. 99275
Modified Human Tubal Fluid
• Irvine Scientific, LLC Bestell-Nr. 90126
Sperm Washing Medium
• Irvine Scientific, LLC Bestell-Nr. 9983
Zentrifuge
• Irvine Scientific, LLC Bestell-Nr. IS-300
Sterile, konische Einmal-Zentrifugenröhrchen
Pasteur-Pipetten, steril
Inkubator, 37 °C

B. Gradientenherstellung:
Zur Durchführung der Gradientenmethode für die Spermienseparation sind zwei Lösungen erforderlich: eine Oberschicht und eine Unterschicht.
1. Oberschicht-Lösung – 50 %:
   a) 5,6 ml der STOCK SOLUTION (Bestell-Nr. 99275) in ein steriles Zentrifugenröhrchen pipettieren.
   b) 4,4 ml Modified Human Tubal Fluid (Bestell-Nr. 90126) zugeben.
   c) Das Röhrchen verschließen und 3–4-mal behutsam überkopfdrehen, um ein vollständiges Durchmischen zu ermöglichen.
   d) Das Röhrchen als „OBERSCHICHT" beschriften.
2. Unterschicht-Lösung – 90 %:
   a) Ein 10-ml-Aliquot der STOCK SOLUTION in ein steriles Zentrifugenröhrchen geben und dieses verschließen (keine weiteren Verdünnungen notwendig – Stock Solution ist 90%ig).
   b) Das Röhrchen als „UNTERSCHICHT" beschriften.
3. Weiter zum Abschnitt ALLGEMEINES VERFAHREN der Packungsbeilage des Produkts. (HINWEIS: 10 ml Oberschicht und 10 ml Unterschicht sind ausreichend für die Verarbeitung von ca. 5 Samenproben.)

Hinweis: Die Begriffe 50 % und 90 % bezeichnen keine tatsächliche Konzentration. Die 50 % und 90 % sind relative Konzentrationen und basieren auf der früheren Nomenklatur, in welcher eine 1:9-Verdünnung von Percoll® als einer 100%igen isotonischen Arbeitslösung gleichwertig definiert war.

ALLGEMEINES VERFAHREN

Im Folgenden ist ein allgemeines Verfahren für eine zweistufige Gradientenmethode für die Separation motiler Spermien von Seminalflüssigkeit aufgeführt. Das Volumen und die Konzentration sind veränderbar, um den Vorlieben des jeweiligen Labors zu entsprechen (d. h. Mini-Gradient, kryokonserviertes Sperma, Gradient mit drei Schichten).

1. Alle Komponenten des Mediums auf Raumtemperatur oder 37 °C bringen.
2. Mit Hilfe einer sterilen Pipette 1,5–2,0 ml der „UNTERSCHICHT" in ein steriles, konisches Einmal-Zentrifugenröhrchen transferieren.
3. Mit Hilfe einer frischen sterilen Pipette ein gleiches Volumen „OBERSCHICHT" auf die „UNTERSCHICHT" transferieren. Dazu wird die Oberfläche der „UNTERSCHICHT" an der Röhrchenwand mit der Pipettenspitze berührt. Die „OBERSCHICHT" vorsichtig abgeben; dazu die Pipette spiralförmig am Röhrchenumfang entlang nach oben bewegen, während der Füllstand der „OBERSCHICHT" zunimmt.
4. Mit Hilfe einer frischen sterilen Pipette behutsam 1,5–2,0 ml verflüssigtes Sperma auf die „OBERSCHICHT" geben.
5. Ungefähr 200–300 x g 10–20 Minuten lang zentrifugieren.* Das Pellet vorsichtig freilegen; dazu entweder die „OBERSCHICHT" und die „UNTERSCHICHT" absaugen oder das Pellet direkt entfernen und in ein frisches steriles Zentrifugenröhrchen transferieren.
   Hinweis: Die Qualität der Spermaprobe ist zu beurteilen und bei der Ermittlung der geeigneten Zentrifugationsdrehzahl und -dauer zu berücksichtigen. Diese sind zur Optimierung des Verfahrens der jeweiligen Probenqualität entsprechend anzupassen.
6. Mit Hilfe einer frischen sterilen Pipette 2,0–3,0 ml eines entsprechenden Waschmediums, wie Sperm Washing Medium (IS-Bestell-Nr. 9983) oder modifiziertes HTF (IS-Bestell-Nr. 90126) mit Proteinzusatz, hinzugeben. Das isolierte Pellet resuspendieren. 8–10 Minuten lang zentrifugieren (~ 200 x g) und den Überstand entfernen. Diesen Schritt für einen zweiten Waschgang wiederholen. Den Überstand entfernen und das Pellet unter Verwendung eines geeigneten Volumens eines entsprechenden Mediums resuspendieren. Damit ist die Probe analysefertig.

Weitere Einzelheiten zum Gebrauch dieser Produkte sind den Verfahren und Vorschriften des jeweiligen Labors zu entnehmen, die eigens für das jeweilige medizinische Programm entwickelt und optimiert wurden.

LAGERUNGSANWEISUNGEN UND STABILITÄT

Die ungeöffneten Behälter bei 2 °C bis 8 °C gekühlt lagern.

Vor Gebrauch auf Umgebungs- oder Inkubatortemperatur (37 °C) erwärmen.

Nicht einfrieren oder hohen Temperaturen aussetzen.

Bei anweisungsgemäßer Lagerung ist ISolate bis zu dem auf der Kennzeichnung des Kartons und des Fläschchens angegebenen Verfallsdatum stabil.

VORSICHTSMASSNAHMEN UND WARNHINWEISE

Dieses Produkt ist für den Gebrauch durch Personal vorgesehen, das in assistierten Reproduktionsverfahren geschult ist. Zu diesen Verfahren zählt der Anwendungsbereich, für den dieses Produkt vorgesehen ist.

Die Einrichtung des Anwenders ist für die Rückverfolgbarkeit des Produkts verantwortlich und muss alle einschlägigen geltenden Bestimmungen zur Rückverfolgbarkeit einhalten.

ISolate erscheint opak. Das ist bei diesem Produkt normal. Fläschchen mit Medium, die sichtbare Partikel oder Kontaminierungen enthalten (unregelmäßige Trübung), nicht verwenden.

ISolate ist bei Verwendung in einem CO_2-Inkubator dicht zu verschließen, um Veränderungen des pH-Werts zu vermeiden.

Angaben zu bekannten Merkmalen und technischen Faktoren, die bei einer Wiederverwendung des Produkts ein Risiko darstellen könnten, wurden nicht identifiziert. Daher darf das Produkt nach dem ersten Gebrauch des Behälters nicht mehr verwendet werden.

Bei Beschädigungen nicht verwenden. Bitte entsorgen oder zwecks Ersatz an den Hersteller zurücksenden.

ITALIANO

Avvertenza per l'UE: solo per uso professionale.

INDICAZIONI PER L'USO

ISolate è formulato per l'uso nel contesto delle procedure di riproduzione assistita che prevedono la manipolazione dello sperma umano. È previsto per la separazione della frazione spermatica contenente spermatozoi mobili dal plasma seminale.

DESCRIZIONE DEL DISPOSITIVO

ISolate è un terreno formulato per consentire la separazione in gradiente di densità della frazione spermatica contenente spermatozoi mobili dal plasma seminale. Consentendo la separazione in gradiente di densità a due strati, riduce efficacemente i contaminanti cellulari quali spermatozoi morti, leucociti e altri detriti cellulari. Il campione risultante contiene prevalentemente spermatozoi mobili.

COMPOSIZIONE

Sali e ioni	Substrati energetici
Cloruro di sodio	Glucosio
Cloruro di potassio	Piruvato di sodio
Solfato di magnesio	Lattato di sodio
Fosfato di potassio	
Cloruro di calcio	Altro
	Sospensione colloidale di particelle di silice
Tampone	
Bicarbonato di sodio	
HEPES	

GARANZIA DI QUALITÀ

ISolate è una sospensione colloidale di particelle di silice stabilizzate con silano idrofilo a legame covalente in fluido tubarico umano tamponato con HEPES, filtrata mediante membrana e preparata in condizioni asettiche. Il livello di garanzia della sterilità (SAL) è di 10^{-3}. ISolate è stato sottoposto ad apposito test su coniglio per la presenza di pirogeni ed è risultato negativo.

ISTRUZIONI PER L'USO

N. di catalogo 99275 - STOCK SOLUTION (soluzione madre)

Terreno a gradiente di densità con concentrazione del 90% per l'uso in una procedura a singolo passaggio o per l'ulteriore diluizione.

A. Materiali consigliati
ISolate Stock Solution (soluzione madre ISolate)
• Irvine Scientific, LLC N. di catalogo 99275
Modified Human Tubal Fluid
• Irvine Scientific, LLC N. di catalogo 90126
Sperm Washing Medium
• Irvine Scientific, LLC N. di catalogo 9983
Centrifuga
• Irvine Scientific, LLC N. di catalogo IS-300
Provette per centrifuga sterili coniche monuso
Pipette Pasteur sterili
Incubatore a 37 °C

B. Preparazione dei gradienti
Il metodo di separazione dello sperma in gradiente di densità prevede l'impiego di due soluzioni: una per lo strato superiore e una per lo strato inferiore.
1. Soluzione per lo strato superiore - 50%
   a) Pipettare 5,6 ml di STOCK SOLUTION (n. di catalogo 99275) in una provetta per centrifuga sterile
   b) Aggiungere 4,4 ml di Modified Human Tubal Fluid (n. di catalogo 90126)
   c) Tappare la provetta e capovolgerla delicatamente 3-4 volte per miscelare a fondo
   d) Etichettare la provetta con la dicitura "STRATO SUPERIORE"
2. Soluzione per lo strato inferiore - 90%
   a) Dosare 10 ml di STOCK SOLUTION in una provetta per centrifuga sterile; tappare la provetta (non sono necessarie ulteriori diluizioni; la Stock Solution ha una concentrazione del 90%)
   b) Etichettare la provetta con la dicitura "STRATO INFERIORE"
3. Passare alla sezione PROCEDURA GENERALE del presente foglio illustrativo del prodotto. (NOTA: 10 ml di strato superiore e 10 ml di strato inferiore consentono il trattamento di circa 5 campioni di sperma.)

Nota: il 50% e il 90% non rappresentano le concentrazioni effettive. Sono concentrazioni relative basate sulla nomenclatura precedente che definiva una soluzione di Percoll® diluito 1:9 come equivalente a una soluzione di lavoro isotonica al 100%.

PROCEDURA GENERALE

La seguente è una procedura generale a due passaggi per la separazione in gradiente di densità degli spermatozoi mobili dal plasma seminale. Il volume e la concentrazione possono essere modificati in base alle preferenze di ciascun laboratorio (cioè, mini-gradiente, sperma crioconservato, gradiente a tre strati).

1. Portare tutti i componenti del terreno a temperatura ambiente oppure a 37 °C.
2. Con una pipetta sterile, trasferire 1,5-2,0 ml di "STRATO INFERIORE" in una provetta per centrifuga sterile conica monuso.
3. Con una nuova pipetta sterile, trasferire un volume equivalente di "STRATO SUPERIORE" sopra lo "STRATO INFERIORE". Eseguire questa operazione ponendo la punta della pipetta a contatto con un punto in cui la superficie dello "STRATO INFERIORE" tocca la parete della provetta. Dispensare con attenzione lo "STRATO SUPERIORE" muovendo la punta della pipetta a spirale mantenendola sempre a contatto con la parete della provetta e salendo lentamente in base all'innalzamento del livello dello "STRATO SUPERIORE".
4. Deporre delicatamente 1,5-2,0 ml di sperma liquefatto sullo "STRATO SUPERIORE" mediante una nuova pipetta sterile.
5. Centrifugare per 10-20 minuti a circa 200-300 x g.* Esporre con cautela il pellet aspirando lo "STRATO SUPERIORE" e lo "STRATO INFERIORE", oppure rimuovere direttamente il pellet stesso e trasferirlo in una nuova provetta per centrifuga sterile.
   Nota: per determinare la velocità e il tempo di centrifugazione corretti, è necessario valutare e tenere in considerazione la qualità del campione di sperma. Per ottimizzare la procedura, la velocità e il tempo di centrifugazione devono essere regolati in base alla qualità del singolo campione.
6. Con una nuova pipetta sterile, aggiungere 2.0-3.0 ml di terreno di lavaggio appropriato quale Sperm Washing Medium (n. di catalogo Irvine Scientific 9983) o Modified HTF (n. di catalogo Irvine Scientific 90126) con integrazione proteica. Sospendere nuovamente il pellet isolato. Centrifugare (a 200 x g circa) per 8-10 minuti e rimuovere il surnatante. Ripetere questo passaggio per un secondo lavaggio. Smaltire il surnatante e sospendere nuovamente il pellet usando un volume adeguato di terreno appropriato. Il campione è ora pronto per l'analisi.

Per ulteriori dettagli sull'uso di questi prodotti, il laboratorio deve consultare le procedure e i protocolli specificamente sviluppati e ottimizzati per il proprio programma medico.

ISTRUZIONI PER LA CONSERVAZIONE E STABILITÀ

Conservare i flaconi integri in frigorifero a una temperatura compresa tra 2 °C e 8 °C.

Prima dell'uso, portarli a temperatura ambiente o riscaldarli in un incubatore (a 37 °C).

Non congelarli né esporli a temperature elevate.

Alle condizioni di conservazione consigliate, ISolate rimane stabile fino alla data di scadenza indicata sulle etichette della confezione e del flacone.

PRECAUZIONI E AVVERTENZE

Questo prodotto deve essere utilizzato da personale qualificato nelle tecniche di riproduzione assistita. Tali procedure comprendono l'applicazione per la quale è previsto l'uso del dispositivo.

La struttura che utilizza questo dispositivo ha la responsabilità di mantenere la tracciabilità del prodotto ed è tenuta a rispettare la normativa nazionale in materia di tracciabilità, ove pertinente.

ISolate ha un aspetto opaco. Questo è da considerarsi normale per il prodotto. Non usare flaconi di terreno che presentino particolato o contaminazione (segnalata da un aspetto torbido non uniforme).

Per evitare variazioni del pH, ISolate deve rimanere ben tappato quando utilizzato in un incubatore a CO_2.

Non sono disponibili informazioni in merito a caratteristiche e fattori tecnici noti che potrebbero rappresentare un rischio qualora il prodotto dovesse essere riutilizzato. Si raccomanda pertanto di non riutilizzare il prodotto dopo l'uso iniziale del contenitore.

In caso di danni, non usarlo. Smaltirlo o restituirlo al produttore per ottenerne la sostituzione.

ESPAÑOL

Advertencia para la UE: solo para uso profesional.

INDICACIÓN DE USO

ISolate está indicado para procedimientos de reproducción asistida en los que se manipule esperma humano. ISolate está indicado para separar la parte móvil del esperma del líquido seminal.

DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO

ISolate es un medio de gradiente de densidad diseñado para separar la fracción móvil del esperma del líquido seminal. Al ser un sistema de gradiente de dos capas, reduce eficazmente los indices de contaminantes celulares como espermatozoides muertos, glóbulos blancos y residuos varios. La muestra resultante contiene sobre todo espermatozoides móviles.

COMPOSICIÓN

Sales e iones	Sustrato energético
Cloruro sódico	Glucosa
Cloruro potásico	Piruvato sódico
Sulfato magnésico	Lactato sódico
Fosfato potásico	
Cloruro cálcico	Otro
	Suspensión coloidal de partículas de sílice
Sistemas tampón	
Bicarbonato sódico	
HEPES	

GARANTÍA DE CALIDAD

ISolate es una suspensión coloidal de partículas de sílice filtrada mediante membranas, procesada asépticamente y estabilizada con silano hidrófilo unido en forma covalente en cultivo HTF con tampón HEPES. El nivel de garantía de esterilidad (SAL) es de 10^{-3}. ISolate ha sido testado y ha dado un resultado negativo en pirógenos en ensayos de pirógenos en conejos.

INSTRUCCIONES DE USO

N.º catálogo 99275 - STOCK SOLUTION

Medio de gradiente de densidad al 90 % para uso en procedimientos de un solo paso o para subsiguiente dilución.

A. Materiales recomendados:
ISolate Stock Solution
• Irvine Scientific, LLC, n.º de catálogo 99275
Modified Human Tubal Fluid
• Irvine Scientific, LLC, n.º de catálogo 90126
Sperm Washing Medium
• Irvine Scientific, LLC, n.º de catálogo 9983
Centrifuga
• Irvine Scientific, LLC kat. č. IS-300
Tubos de centrifuga cónicos, estériles y desechables
Pipetas Pasteur estériles
Incubadora (37 °C)

B. Preparación del gradiente:
Para llevar a cabo el método de separación de esperma mediante gradiente se necesitan dos soluciones: una capa superior y una capa inferior.
1. Solución de capa superior (50 %):
   a) Poner STOCK SOLUTION (n.º catálogo 99275) y la pipeta de 5,6 ml en un tubo de centrifuga estéril.
   b) Añadir 4,4 ml del Modified Human Tubal Fluid (n.º catálogo 90126).
   c) Tapar el tubo y voltearlo con cuidado 3-4 veces para que se mezcle bien.
   d) Etiquetar el tubo como «CAPA SUPERIOR».
2. Solución de capa inferior (90 %):
   a) Separar una alícuota de 10 ml de STOCK SOLUTION, pasarla a un tubo de centrifuga estéril y taparlo. (No son necesarias más diluciones. Stock Solution está al 90 %.)
   b) Etiquetar el tubo como «CAPA INFERIOR».
3. Continuar en la sección PROCEDIMIENTO GENERAL del prospecto del producto. (NOTA: 10 ml de capa superior y 10 ml de capa inferior permiten procesar aprox. 5 muestras de semen.)

Nota: Los términos «50 %» y «90 %» no representan una concentración real. 50 % y 90 % son concentraciones relativas basadas en la nomenclatura anterior, en la que se definía una dilución 1:9 de Percoll® como igual a una solución de trabajo isotónica al 100 %.

PROCEDIMIENTO GENERAL

A continuación se detalla un procedimiento general para separar espermatozoides móviles del semen mediante gradiente en dos pasos. El volumen y la concentración pueden modificarse para acomodar las preferencias procedimentales de cada laboratorio (p. ej., minigradiente, semen criopreservado, gradiente de tres capas).

1. Dejar que todos los componentes del medio alcancen la temperatura ambiente o 37 °C.
2. Usando una pipeta estéril, transferir 1,5-2,0 ml de «CAPA INFERIOR» a un tubo de centrifuga cónico estéril y desechable.
3. Usando una pipeta estéril nueva, transferir un volumen igual de «CAPA SUPERIOR» encima de la «CAPA INFERIOR». Para ello, se debe tocar la superficie de la «CAPA INFERIOR» en el lateral del tubo con la punta de la pipeta. Dispensar con cuidado la «CAPA SUPERIOR» moviendo en espiral la punta de la pipeta en torno a la circunferencia del tubo en un movimiento ascendente a medida que sube el nivel de la «CAPA SUPERIOR».
4. Poner con cuidado 1,5-2,0 ml de esperma licuado sobre la «CAPA SUPERIOR» usando una pipeta estéril nueva.
5. Centrifugar durante 10-20 minutos a unos 200-300 g*. Con mucho cuidado, dejar al descubierto el sedimento aspirando la «CAPA SUPERIOR» y la «CAPA INFERIOR» o extrayendo directamente el sedimento y pasándolo a un tubo de centrifuga estéril y nuevo.
   Nota: Hay que evaluar y tener en cuenta la calidad de la muestra de esperma para determinar la velocidad y tiempo de centrifugado adecuados. Ambos parámetros deben ajustarse según la calidad de la muestra concreta a fin de optimizar el procedimiento.
6. Usando una pipeta estéril nueva, añadir 2.0-3.0 ml de un medio de lavado adecuado, como por ejemplo Sperm Washing Medium (n.º catálogo 9983 de IS) o Modified HTF (n.º catálogo 90126 de IS) con suplementos proteicos. Vuelva a suspender el sedimento aislado. Centrifugar (~200 g) durante 8-10 minutos y retirar el sobrenadante. Repetir este paso en caso de un segundo lavado. Desechar el sobrenadante y suspender de nuevo el sedimento empleando un volumen correspondiente de medio adecuado. La muestra estará lista para usar.

Para más detalles sobre la utilización de estos productos, consultar los protocolos y los procedimientos de su propio laboratorio, que se habrán desarrollado y optimizado específicamente de acuerdo con su programa médico particular.

INSTRUCCIONES DE CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Conservar los envases sin abrir refrigerados a una temperatura entre 2 y 8 °C.

Calentar a temperatura ambiente o en incubadora (37 °C) antes de utilizar.

No congelar ni exponer a altas temperaturas.

ISolate se mantiene estable hasta la fecha de caducidad impresa en la caja y en las etiquetas de los frascos si se conserva siguiendo las indicaciones.

PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

Este producto está destinado a su uso por parte de personal con formación en procedimientos de reproducción asistida. Entre estos procedimientos se incluye la aplicación para la que se ha diseñado el producto.

El centro donde se utilice este producto tiene la responsabilidad de mantener la trazabilidad del producto y debe cumplir la normativa nacional sobre trazabilidad, según corresponda.

ISolate presentará un aspecto opaco. Se trata de una característica normal en este producto. No utilizar ningún vial de medio que muestre partículas o contaminación (turbidez no uniforme).

Si se utiliza una incubadora de CO_2, ISolate debe cerrarse de manera hermética para evitar alteraciones del pH.

No se han identificado con certeza las características y los factores técnicos que pudieran suponer un riesgo si se reutilizara el producto, por lo que no se debe utilizar el producto después del uso inicial del envase.

Si el producto está dañado, no lo utilice. Por favor, deséchelo o devuélvalo al fabricante para que lo sustituya.

FRANÇAIS

Mise en garde (UE) : réservé à un usage professionnel.

INDICATION D'UTILISATION

ISolate est destiné à la manipulation du sperme humain lors des techniques de procréation médicalement assistée. ISolate permet de séparer les composants mobiles du sperme du liquide séminal.

DESCRIPTION DU DISPOSITIF

ISolate est un milieu à gradient de densité conçu pour séparer les composants mobiles du sperme du liquide séminal. Ce système à gradient à double couche permet de réduire de façon efficace les contaminants cellulaires, tels que spermatozoïdes morts, globules blancs et débris divers. L'échantillon obtenu contient principalement des spermatozoïdes mobiles.

COMPOSITION

Sels et ions	Substrat énergétique
Chlorure de sodium	Glucose
Chlorure de potassium	Pyruvate de sodium
Sulfate de magnésium	Lactate de sodium
Phosphate de potassium	Autre
Chlorure de calcium	Suspension colloïdales de particules de silice
Tampon	
Bicarbonate de sodium	
HEPES	

ASSURANCE QUALITÉ

Filtré par membrane et préparé de façon aseptique, ISolate est une suspension colloïdale de particules de silice stabilisées par du silane hydrophile lié par covalence, dans un milieu HTF tamponné à l'HEPES. Le niveau d'assurance de stérilité (NAS) est de 10^{-3}. L'apyrogénicité d'ISolate a été confirmée par le test de recherche des pyrogènes effectué chez le lapin.

MODE D'EMPLOI

N° réf. 99275 – STOCK SOLUTION

Milieu à gradient de densité à 90 % pour procédure en une seule étape ou pour dilution ultérieure.

A. Matériel suggéré :
ISolate Stock Solution
• Irvine Scientific, LLC N° réf. 99275
Modified Human Tubal Fluid
• Irvine Scientific, LLC N° réf. 90126
Sperm Washing Medium
• Irvine Scientific, LLC N° réf. 9983
Centrifugeuse
• Irvine Scientific, LLC N° réf. IS-300
Tubes coniques pour centrifugeuse, stériles, jetables
Pipettes Pasteur, stériles
Étuve, 37 °C

B. Préparation du gradient :
Deux solutions sont nécessaires pour réaliser la séparation du sperme par la méthode à gradient : une couche supérieure et une couche inférieure.
1. Solution pour la couche supérieure – 50 % :
   a) Prélever 5,6 ml de STOCK SOLUTION (n° réf. 99275) à l'aide d'une pipette dans un tube stérile pour centrifugeuse.
   b) Ajouter 4,4 ml de Modified Human Tubal Fluid (n° réf. 90126).
   c) Boucher le tube et le retourner délicatement 3 ou 4 fois pour bien mélanger son contenu.
   d) Identifier le tube « COUCHE SUPÉRIEURE ».
2. Solution pour la couche inférieure – 90 % :
   a) Prélever 10 ml de STOCK SOLUTION dans un tube stérile pour centrifugeuse. Le boucher (aucune autre dilution n'est nécessaire ; la Stock Solution est à 90 %)
   b) Identifier le tube « COUCHE INFÉRIEURE ».
3. Passer à la rubrique « PROCÉDURE GÉNÉRALE » de la notice du produit. (REMARQUE : 10 ml de couche supérieure et 10 ml de couche inférieure permettent de traiter environ 5 échantillons de sperme.)

Remarque : les termes 50 % et 90 % ne représentent pas une concentration réelle. Il s'agit de concentrations relatives basées sur l'ancienne nomenclature qui définissait une dilution de Percoll® de 1:9 équivalente à une solution de travail isotonique à 100 %.

PROCÉDURE GÉNÉRALE

La procédure générale qui suit décrit une séparation par gradient en deux étapes des spermatozoïdes mobiles du liquide séminal. Le volume et la concentration peuvent être modifiés en fonction des préférences de chaque laboratoire (c.-à-d. mini-gradient, sperme cryoconservé, gradient à trois couches).

1. Amener tous les composants du milieu à la température ambiante ou 37 °C.
2. À l'aide d'une pipette stérile, transférer 1,5 à 2,0 ml de « COUCHE INFÉRIEURE » dans un tube conique pour centrifugeuse stérile, jetable.
3. À l'aide d'une pipette stérile neuve, transférer un volume égal de « COUCHE SUPÉRIEURE » sur la « COUCHE INFÉRIEURE ». Pour ce faire, toucher la surface de la « COUCHE INFÉRIEURE » sur la paroi du tube avec le bout de la pipette. Répartir délicatement la « COUCHE SUPÉRIEURE » en faisant tourner le bout de la pipette autour du tube suivant un mouvement ascendant, à mesure que la « COUCHE SUPÉRIEURE » monte.
4. Déposer délicatement 1,5 à 2,0 ml de sperme liquéfié sur la « COUCHE SUPÉRIEURE » à l'aide d'une pipette stérile neuve.
5. Centrifuger pendant 10 à 20 minutes entre 200 et 300 xg environ*. Exposer délicatement le culot en aspirant la « COUCHE SUPÉRIEURE » et la « COUCHE INFÉRIEURE » ou en le retirant directement et le transférant dans un tube stérile pour centrifugeuse neuf.
   Remarque : la qualité de l'échantillon de sperme doit être évaluée et prise en compte avant de déterminer la vitesse et la durée de centrifugation appropriées. Pour optimiser la procédure, ces valeurs doivent être ajustées en fonction de la qualité de chaque échantillon.
6. À l'aide d'une pipette stérile neuve, ajouter 2,0 à 3,0 ml de milieu de lavage approprié, tel que Sperm Washing Medium (n° réf. IS 9983) ou Modified HTF (n° réf. IS 90126) supplémentés en protéines. Remettre le culot isolé en suspension. Centrifuger (~200 xg) pendant 8 à 10 minutes et retirer le surnageant. Répéter cette étape pour un deuxième lavage. Jeter le surnageant et remettre le culot en suspension à l'aide d'un volume adéquat de milieu approprié. L'échantillon est désormais prêt pour l'analyse.

Pour plus de détails sur l'utilisation de ces produits, chaque laboratoire doit consulter ses propres procédures et protocoles standard qui ont été spécialement élaborés et optimisés pour ch

POLSKI

Uwaga obowiązująca w UE: Wyłącznie do użytku profesjonalnego.

PRZEZNACZENIE

Produkt ISolate jest przeznaczony do stosowania w procedurach wspomaganego rozrodu obejmujących manipulację ludzką spermą. Produkt ISolate jest przeznaczony do oddzielania frakcji plemników ruchliwych od płynu nasiennego.

OPIS WYROBU

Produkt ISolate to pożywka z gradientem gęstości przeznaczona do oddzielania frakcji plemników ruchliwych od płynu nasiennego. Jako system o dwupoziomowym gradiencie jest skuteczny w ograniczaniu ilości zanieczyszczeń komórkowych, takich jak martwe plemniki, leukocyty i różne inne szczątkowe zanieczyszczenia. Uzyskana próbka zawiera głównie ruchliwe plemniki.

SKŁAD

Sole i jony	Substrat energetyczny
Chlorek sodu	Glukoza
Chlorek potasu	Pirogronian sodu
Siarczan magnezu	Mleczan sodu
Fosforan potasu	
Chlorek wapnia	Inne
	Zawiesina koloidalna cząstek krzemionki
Bufor	
Wodorowęglan sodu	
HEPES	

ZAPEWNIANIE JAKOŚCI

ISolate jest filtrowaną membranowo, aseptycznie przetwarzaną zawiesiną koloidalną cząstek krzemionki, stabilizowaną kowalentnie związanymi hydrofilnymi silanem w HTF zbuforowanym HEPES. Poziom zapewniania sterylności (SAL) wynosi 10^{-3}. Pożywkę ISolate przetestowano na królikach pod kątem obecności pirogenów, uzyskując wyniki negatywne.

INSTRUKCJA UŻYCIA

Nr katalogowy 99275 — STOCK SOLUTION

Pożywka o gradiencie gęstości 90% do użycia w procedurze jednoetapowej lub do dalszego rozcieńczania.

A. Sugerowane materiały:
ISolate Stock Solution
• Irvine Scientific, LLC nr katalogowy 99275
Modified Human Tubal Fluid
• Irvine Scientific, LLC nr katalogowy 90126
Pożywka Sperm Washing Medium
• Irvine Scientific, LLC nr katalogowy 9983
Wirówka
• Irvine Scientific, LLC nr katalogowy IS-300
Sterylne, jednorazowe, stożkowe probówki wirówkowe
Sterylne pipety Pasteura
Inkubator 37°C

B. Przygotowanie gradientu:
Do rozdziału spermy wg gradientu potrzebne są dwa roztwory: górna warstwa i dolna warstwa.

1. Górna warstwa — roztwór 50%:
   a) Wziąć roztwór STOCK SOLUTION (nr katalogowy 99275) i za pomocą pipety przenieść 5,6 ml do sterylnej probówki wirówkowej
   b) Dodać 4,4 ml płynu Modified Human Tubal Fluid (nr katalogowy 90126)
   c) Zamknąć probówkę i delikatnie odwrócić 3–4 razy, aby umożliwić dokładne wymieszanie
   d) Oznaczyć probówkę jako „GÓRNA WARSTWA"
2. Dolna warstwa — roztwór 90%:
   a) Odmierzyć 10 ml roztworu STOCK SOLUTION do sterylnej probówki wirówkowej i zamknąć probówkę zatyczką (nie są wymagane dodatkowe rozcieńczenia, roztwór Stock Solution ma stężenie 90%)
   b) Oznaczyć probówkę jako „DOLNA WARSTWA"
3. Kontynuować według części PROCEDURA OGÓLNA niniejszej ulotki dołączonej do produktu. (UWAGA: 10 ml górnej warstwy i 10 ml dolnej warstwy wystarczy na przetworzenie około 5 próbek nasienia).

Uwaga: Terminy 50% i 90% nie odpowiadają rzeczywistym stężeniom. Wartości 50% i 90% określają stężenia względne zgodnie z wcześniej używaną nomenklaturą, w której roztwór Percoll® o rozcieńczeniu 1:9 był zdefiniowany jako równy 100-procentowemu roboczemu roztworowi izotonicznemu.

PROCEDURA OGÓLNA

Poniżej opisana jest ogólna procedura dwustopniowej separacji plemników ruchliwych od nasienia. Objętość i stężenie mogą być zmodyfikowane w celu zachowania zgodności z preferencjami laboratorium (tzn.: minigradient, nasienie zabezpieczone krogenicznie, gradient trzywarstwowy).

1. Doprowadzić wszystkie składniki pożywek do temperatury pokojowej lub 37°C.
2. Za pomocą sterylnej pipety przenieść 1,5–2,0 ml „DOLNEJ WARSTWY" do sterylnej, jednorazowej, stożkowej probówki wirówkowej.
3. Za pomocą nowej sterylnej pipety przenieść taką samą objętość „GÓRNEJ WARSTWY" na wierzch „DOLNEJ WARSTWY". Operację tę wykonuje się poprzez dotknięcie końcówką pipety powierzchni „DOLNEJ WARSTWY" z boku probówki. Ostrożnie nanosić „GÓRNĄ WARSTWĘ", wykonując spiralny ruch końcówką pipety po obwodzie probówki, coraz wyżej w miarę podnoszenia się poziomu „GÓRNEJ WARSTWY".
4. Ostrożnie umieścić 1,5–2,0 ml płynnego nasienia na „GÓRNEJ WARSTWIE" przy użyciu nowej sterylnej pipety.
5. Wirować przez 10–20 minut przy około 200–300 x g*. Ostrożnie odsłonić osad, aspirując „GÓRNĄ" i „DOLNĄ WARSTWĘ" lub bezpośrednio zbierając osad i przenosząc go do nowej sterylnej probówki wirówkowej.

Uwaga: Należy ocenić jakość próbki spermy i wziąć pod uwagę wynik oceny przy doborze czasu i szybkości wirowania. Należy dopasować te parametry do jakości konkretnej próbki w celu optymalizacji procedury.

6. Za pomocą nowej sterylnej pipety dodać 2,0–3,0 ml odpowiedniej pożywki przemywającej, np. Sperm Washing Medium (nr katalogowy IS 9983) lub Modified HTF (nr katalogowy IS 90126) z dodatkiem białka. Odtworzyć zawiesinę z wyizolowanego osadu. Wirować (~200 x g) przez 8–10 minut i usunąć nadsącz. Powtórzyć ten krok w celu wykonania drugiego przemycia. Usunąć nadsącz i odtworzyć zawiesinę osadu w odpowiedniej objętości wielkości pożywki. Teraz próbka jest gotowa do analizy.

Szczegółowe informacje o wykorzystaniu tych produktów należy zweryfikować w wewnętrznych procedurach oraz protokołach laboratorium, które opracowano i zoptymalizowano pod kątem poszczególnych programów medycznych.

INSTRUKCJE DOTYCZĄCE PRZECHOWYWANIA I STABILNOŚCI

Nieotwarte pojemniki przechowywać w chłodziarce w temperaturze od 2 do 8°C.

Przed użyciem ogrzać do temperatury otoczenia lub inkubatora (37°C).

Nie zamrażać ani nie narażać na wysokie temperatury.

Przy przechowywaniu zgodnie ze wskazówkami produkt ISolate jest stabilny do upływu terminu ważności podanego na pudełku i etykietach butelek.

ŚRODKI OSTROŻNOŚCI I OSTRZEŻENIA

Wyrób ten jest przeznaczony do użytku przez personel przeszkolony w procedurach wspomaganego rozrodu. Procedury te obejmują sposób wykorzystania wyrobu zgodnie z jego przeznaczeniem.

Ośrodek użytkownika, w którym stosowany jest ten wyrób, odpowiada za zachowanie identyfikowalności produktu i musi postępować zgodnie z krajowymi przepisami dotyczącymi identyfikowalności, jeśli mają one zastosowanie.

Produkt ISolate jest nieprzejrzysty. Jest to normalne dla tego produktu. Nie używać folek z pożywką, w których widoczne są cząstki stałe lub zanieczyszczenia (nierównomierne zmętnienie).

Pojemniki z produktem ISolate umieszczone w inkubatorze CO_2 powinny być szczelnie zamknięte, aby nie dochodziło do zmian pH.

Nie są dostępne informacje na temat znanych właściwości i parametrów technicznych, które mogą stwarzać ryzyko podczas ponownego użycia produktu. Z tego względu nie należy używać produktu po pierwszym użyciu zawartości danego pojemnika.

W razie uszkodzenia produktu nie należy go używać. Uszkodzony produkt należy poddać utylizacji lub zwrócić do Producenta w celu wymiany na nowy.

ROMÂNĂ

Avertizare UE: Numai pentru uz profesional.

INDICAȚIE DE UTILIZARE

ISolate se utilizează în procedurile de reproducere asistată care includ manipularea spermei umane. ISolate se utilizează pentru separarea fracției spermatozoizilor mobili de lichidul seminal.

DESCRIEREA DISPOZITIVULUI

ISolate este un mediu de cultură cu gradient de densitate conceput să separe fracția de spermatozoizi mobili din spermă de lichidul seminal. Având un sistem de gradient cu două straturi de densitate, reduce în mod eficace contaminanții celulari, precum spermatozoizii neviabili, leucocitele și alte detritusuri. Proba rezultată conține în mod predominant spermatozoizi mobili.

COMPOZIȚIE

Săruri și ioni	Substrat energetic
Clorură de sodiu	Glucoză
Clorură de potasiu	Piruvat de sodiu
Sulfat de magneziu	Lactat de sodiu
Fosfat de potasiu	
Clorură de calciu	Altul
	Soluție coloidală cu particule de dioxid de siliciu
Soluție tampon	În suspensie
Bicarbonat de sodiu	
HEPES	

ASIGURAREA CALITĂȚII

ISolate este o suspensie coloidală, filtrată prin membrană, prelucrată aseptic de particule de dioxid de siliciu stabilizate prin intermediul silanului hidrofil cu legătură covalentă în HTF tamponat cu HEPES. Nivelul de asigurare a sterilității (SAL) este de 10^{-3}. ISolate a fost testat pentru substanțe pirogene, iar rezultatul testului pe iepuri pentru substanțe pirogene a fost negativ.

INSTRUCȚIUNI DE UTILIZARE

Catalog #99275 - STOCK SOLUTION

Mediu cu gradient de densitate de 90% care se utilizează într-o procedură cu un singur pas sau pentru diluții ulterioare.

A. Materiale sugerate:
ISolate Stock Solution
• Irvine Scientific, LLC catalog #99275
Modified Human Tubal Fluid
• Irvine Scientific, LLC #90126
Sperm Washing Medium
• Irvine Scientific, LLC Catalog #9983
Centrifugă
• Irvine Scientific, LLC Catalog #IS-300
Eprubete conice de centrifugă sterile, de unică folosință
Pipete Pasteur sterile
Incubator, 37 °C

B. Pregătirea gradientului:
Este nevoie de două soluții pentru efectuarea metodei de separare a spermatozoizilor prin gradient de densitate: Un strat superior și un strat inferior.

1. Soluția stratului superior - 50%:
   a) Luați STOCK SOLUTION (Catalog #99275) și puneți cu o pipetă de 5,6 ml într-o eprubetă de centrifugă sterilă
   b) Adăugați 4,4 ml de Modified Human Tubal Fluid (Catalog #90126)
   c) Puneți dopul și răsturnați eprubeta ușor de 3 - 4 ori pentru a permite amestecarea completă
   d) Etichetați eprubeta „STRAT SUPERIOR"
2. Soluția stratului inferior - 90%:
   a) Puneți 10 ml de STOCK SOLUTION într-o eprubetă de centrifugă sterilă și puneți dopul - (Nu este necesară nicio altă diluție - Stock Solution este de 90%)
   d) Etichetați eprubeta "STRAT INFERIOR"
3. Consultați în continuare secțiunea PROCEDURĂ GENERALĂ din prospectul produsului. (NOTĂ: Un strat superior de 10 ml și un strat inferior de 10 ml pot prelucra aproximativ 5 probe de spermă.)

Notă: Valorile de 50% și 90% nu reprezintă concentrația efectivă. Valorile de 50% și 90% sunt concentrații relative bazate pe clasificarea anterioară care definea o diluție de 1:9 de Percoll® o rezultând în 1:9 buf zdefiniowany jako równy 100-procentowemu roboczemu roztworowi izotonicznemu.

PROCEDURA GENERALĂ

În continuare este descrisă procedura generală pentru separarea în două etape a spermatozoizilor mobili de spermă, folosind gradientul de densitate. Volumul și concentrația pot fi modificate în funcție de preferințele fiecărui laborator (ex. gradient minim, spermatozoizi conservați criogenic, gradient cu trei straturi de densitate).

1. Aduceți toate componentele mediului la temperatura camerei sau la 37 °C.
2. Utilizând o pipetă sterilă, transferați 1,5 - 2,0 ml din „STRATUL INFERIOR" într-o eprubetă conică de centrifugă sterilă, de unică folosință.
3. Utilizând o nouă pipetă sterilă, transferați același volum de „STRAT SUPERIOR" peste „STRATUL INFERIOR". Acest lucru se realizează prin atingerea suprafeței „STRATULUI INFERIOR" cu vârful pipetei pe latura eprubetei. Eliberați atent „STRATUL SUPERIOR" printr-o mișcare în spirală a vârfului pipetei pe lungimea circumferinței eprubetei, trăgând-o în sus pe măsură ce nivelul „STRATULUI SUPERIOR" crește.
4. Puneți ușor 1,5 - 2,0 ml de spermă lichefiată pe „STRATUL SUPERIOR" utilizând o nouă pipetă sterilă.
5. Centrifugați timp de 10 - 20 de minute la aproximativ 200 - 300 xg * Expuneți cu grijă peleta fie prin aspirarea „STRATULUI SUPERIOR" și a „STRATULUI INFERIOR", fie prin scaterea directă a peletei și transferarea acesteia într-o nouă eprubetă de centrifugă sterilă.

Notă: Calitatea probei de spermă trebuie evaluată și luată în considerare în momentul stabilirii vitezei și a timpului cerut de centrifugare. Aceste valori trebuie reglate în funcție de calitatea fiecărui specimen pentru optimizarea procedurii.

6. Utilizând o nouă pipetă sterilă, adăugați 2.0 - 3.0 ml de mediu de spălare corespunzător, cum ar fi Sperm Washing Medium (Catalog IS #9983) sau Modified HTF (Catalog IS #90126), cu suplimente proteice. Repuneți peleta izolată în suspensie. Centrifugați (~200xg) timp de 8 - 10 minute și îndepărtați supernatantul. Repetați pasul pentru a doua spălare. Aruncați supernatantul și repuneți peleta în suspensie utilizând un volum adecvat din mediul corect. Proba este acum gata pentru a fi analizată.

Pentru detalii suplimentare privind folosirea acestor produse, fiecare laborator trebuie să își consulte propriile proceduri și protocoale de laborator, care au fost elaborate și optimizate special pentru programul dvs. medical individual.

INSTRUCȚIUNI PENTRU PĂSTRARE ȘI STABILITATE

Păstrați flacoanele nedeschise la frigider, la o temperatură între 2 °C și 8 °C.

Încălziți la temperatura mediului ambiant sau la temperatura incubatorului (37 °C) înainte de utilizare.

Nu congelați și nu expuneți la temperaturi mari.

ISolate este stabil până la data de expirare indicată pe eticheta cutiei și a flaconului în condițiile de depozitare indicate.

PRECAUȚII ȘI AVERTISMENTE

Acest dispozitiv este conceput pentru a fi utilizat de către personal instruit în procedurile de reproducere asistată. Aceste proceduri includ întrebuințarea pentru care este conceput acest dispozitiv.

Instituția care utilizează acest dispozitiv este responsabilă pentru menținerea trasabilității produsului și trebuie să respecte normele naționale referitoare la trasabilitate, când este cazul.

ISolate va avea un aspect opac. Este normal pentru acest produs. Nu utilizați nici folă cu mediu care prezintă urme de particule în suspensie sau contaminare (aspect tulbure neuniform).

ISolate trebuie să fie închis ermetic atunci când este utilizat într-un incubator cu CO_2 pentru a se evita modificările de pH.

Nu s-au identificat informații despre caracteristicile cunoscute și factorii tehnici care ar putea să prezinte un risc dacă produsul ar trebui reutilizat, așadar, produsul nu va fi folosit după utilizarea inițială a recipientului.

A nu se utiliza în caz de deteriorare. A se arunca sau a se înapoia producătorului pentru a fi înlocuit.

SVENSKA

EU – Obs! Endast för professionellt bruk

INDIKATIONER

ISolate är avsett för användning vid proceduror för assisterad befruktning som involverar manipulering av humana spermier. ISolate är avsett för att separera den motila spermiefraktionen från sädesvätska.

PRODUKTBESKRIVNING

ISolate är ett densitetsgradientmedium framtaget för att separera den motila spermiefraktionen från sädesvätska. Detta gradientsystem med två skikt minskar effektivt förekomsten av cellulära kontaminanter, såsom döda spermier, leukocyter och annat skräp. Det resulterande provet innehåller huvudsakligen motila spermier.

SAMMANSÄTTNING

Salter och joner	Energisubstrat
Natriumklorid	Glukos
Kaliumklorid	Natriumpyruvat
Magnesiumsulfat	Natriumlaktat
Kaliumfosfat	
Kalciumklorid	Övrigt
	Kolloidal suspension av kiselpartiklar
Buffert	
Natriumbikarbonat	
HEPES	

KVALITETSSÄKRING

ISolate är en membranfiltrerad, aseptiskt bearbetad kolloidal suspension av kiselpartiklar stabiliserade med kovalent bundet hydrofilt silan i HEPES-buffrad HTF. Steriliitesnivån (SAL, Sterility Assurance Level) är 10^{-3}. ISolate har testats med pyrogentest på kanin och befunnits negativt för pyrogener.

BRUKSANVISNING

Katalognr 99275 – STOCK SOLUTION

90 % densitetsgradientmedium för användning i en procedur i ett steg eller för ytterligare spädning.

A. Rekommenderat material:
ISolate Stock Solution
• Irvine Scientific, LLC katalognr 99275
Modified Human Tubal Fluid
• Irvine Scientific, LLC nr 90126
Sperm Washing Medium
• Irvine Scientific, LLC katalognr 9983
Centrifug
• Irvine Scientific, LLC katalognr IS-300
Sterila, konformande centrifugrör för engångsbruk
Pasteurpipetter, sterila
Inkubator, 37 °C

B. Gradientberedning:
Två lösningar krävs för att utföra spermieseparation med gradientmetoden: En toppskikts- och en bottenskiktslösning.

1. Toppskiktslösning – 50 %:
   a) Ta STOCK SOLUTION (katalognr 99275) och pipettera 5,6 ml i ett sterilt centrifugrör
   b) Tillsätt 4,4 ml Modified Human Tubal Fluid (katalognr 90126)
   c) Försluta röret och vänd det försiktigt 3–4 gånger så att innehållet blandas fullständigt
   d) Märk röret med "TOPPSKIKT"
2. Bottenskiktslösning – 90 %:
   a) Häll en alikvot på 10 ml av STOCK SOLUTION i ett sterilt centrifugrör och försluta – (ingen ytterligare spädning krävs – Stock Solution är på 90 %)
   b) Märk röret med "BOTTENSKIKT"
3. Fortsätt till avsnittet ALLMÄNT FÖRFARANDE i produktens bipacksedel. (ANM: 10 ml toppskikt och 10 ml bottenskikt räcker till bearbetning av cirka 5 spermaprover.)

Anm: Termerna 50 % och 90 % anger inte en faktisk koncentration. 50 % och 90 % är relativa koncentrationer baserade på tidigare nomenklatur som definierade en 1:9-spädning av Percoll® såsom likvärdig med en 100 % isotonlösning.

ALLMÄNT FÖRFARANDE

Nedan beskrivs ett allmänt förfarande för en tvåstegsgradientseparation av motila spermier från sädesvätska. Volymen och koncentrationen kan modifieras för att uppfylla det enskilda laboratoriets preferenser (dvs. minigradient, kryopreserverad sperma, treskiktsgradient).

1. Låt alla mediekomponenter uppnå rumstemperatur eller 37 °C.
2. Använd en steril pipett och överför 1,5–2,0 ml av "BOTTENSKIKTET" till ett sterilt, konformat centrifugrör för engångsbruk.
3. Använd en ny steril pipett och överför en lika stor volym "TOPPSKIKT" ovanpå "BOTTENSKIKTET". Detta görs genom att vidröra yttepa på "BOTTENSKIKTET" vid röret sida med pipettspetsen. Dispensera omsorgsfullt "TOPPSKIKTET" genom att vrida pipettspetsen i spiral runt rörets omkrets i en uppåtrikad rörelse efterhand som "TOPPSKIKT"-nivån stiger.
4. Placera försiktigt 1,5–2,0 ml likvifierad sperma ovanpå "TOPPSKIKTET" med användning av en ny, steril pipett.
5. Centrifugera i 10–20 minuter vid cirka 200–300 g.* Exponera pelleten omsorgsfullt genom att antingen suga av "TOPP-" och "BOTTENSKIKTET" eller genom att ta upp pelleten direkt och föra över den till ett nytt, sterilt centrifugrör.

Anm: Spermaprovets kvalitet ska bedömas och tas i beaktande vid bestämning av korrekt centrifugeringshastighet och -tid. Dessa bör justeras i enlighet med det enskilda provets kvalitet, för optimering av förfarandet.

6. Använd en ny steril pipett och tillsätt 2.0–3.0 ml lämpligt tvättmedium såsom Sperm Washing Medium (IS katalognr 9983) eller Modified HTF (IS katalognr 90126) med proteinillskott. Resuspendera den isolerade pelleten. Centrifugera (vid ca 200 g) i 8–10 minuter och avlägsna supernatanten. Upprepa detta steg för en andra tvätt. Kassera supernatanten och resuspendera pelleten med användning av en adekvat volym lämpligt medium. Provet är nu klart för analys.

För ytterligare information om användning av dessa produkter bör varje laboratorium konsultera sina egna laboratorieförfaranden och -protokoll som utvecklats och optimerats särskilt för det egna medicinska programmet.

FÖRVARINGSANVISNINGAR OCH HÅLLBARHET

Öppnade behållare ska förvaras i kylskåp vid 2–8 °C.

Ska värmas upp till rumstemperatur eller inkubatortemperatur (37 °C) före användning.

Får ej frysas eller exponeras för höga temperaturer.

Vid förvaring enligt anvisningarna är ISolate hållbart fram till det utgångsdatum som anges på kartongen och flasketiketterna.

FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER OCH VARNINGAR

Denna produkt är avsedd att användas av personal med utbildning i proceduror för assisterad befruktning. Dessa proceduror innefattar den avsedda tillämpning som denna produkt är avsedd för.

Den institution där denna produkt används ansvarar för att upprätthålla produktens spårbarhet och måste följa nationella förordningar avseende spårbarhet där så är tillämpligt.

ISolate är ogenomskinligt. Detta är normalt för denna produkt. Använd inga ampuller med medium som innehåller partiklar eller visar tecken på kontaminering (ojämn grumling).

ISolate ska vara ordentligt försluten vid användning i en CO_2-inkubator så att pH-förändringar undviks.

Förvara ISolate i en mörkfärgad flaska för att undvika ljusexponering som skulle kunna utgöra en risk om produkten skulle komma att återanvändas föreligger inte och därför får produkten inte användas igen efter den första användningen av behållaren.

Om produkten är skadad får den inte användas. Kassera eller returnera den till tillverkaren för utbyte.

Information om kända egenskaper och tekniska faktorer som skulle kunna utgöra en risk om produkten skulle komma att återanvändas föreligger inte och därför får produkten inte användas igen efter den första användningen av behållaren.

Om produkten är skadad får den inte användas. Kassera eller returnera den till tillverkaren för utbyte.

EESTI KEEL

ELi hoiatus: üksnes kutsealaseks kasutamiseks.

NÄIDUSTUS KASUTAMISEKS

ISolate on mõeldud abistatud viljastamisprotseduurideks, mis hõlmavad inimsperma manipulatsiooni. ISolate on mõeldud sperma liikuva osa eraldamiseks seemnevedelikust.

SEADME KIRJELDUS

ISolate on tihedusgradiendi söötme, mis on loodud sperma liikuva osa eraldamiseks seemnevedelikust. Kahekihilise gradiendisüsteemina vähendab see tõhusalt raku saasteaineid, nagu surnud spermat, valged vereliblesid ja muud jäätmeid. Saadud proov sisaldab enamast liikuvaid seemnerakke.

KOOSTIS

Soolad ja ioonid	Energia substraat
Naatriumkloriid	Glükoos
Kaaliumkloriid	Naatriumpüruvaat
Magneesiumsulfaat	Naatriumlaktaat
Kaaliumfosfaat	
Kaltsiumkloriid	Muu
	Räniosakeste kolloidlahus
Puhver	
Naatriumvesinik-karbonaat	
HEPES	

KVALITEEDI TAGAMINE

ISolate on membraanfiltreeritud, aseptiliselt töödeldud kolloidlahus räniokiosidi osakestest, mis on stabiliseeritud kovalentselt seotud hüdrofiilse silaaniga HEPES-puhverdatud inimese munajuhavedelikus. Steriilsuse tagamise tase (SAL) on 10^{-3}. ISolate'i on katsetatud ja selle tulemusena pürogeenide suhtes oli küüliku pürogeenide katse järgi negatiivne.

KASUTUSJUHEND

Kataloogi nr 99275 – STOCK SOLUTION

90% tihedusega gradientsöötme, mida kasutatakse üheetapilises protseduuris või edasiseks lahjendamiseks.

A. Soovitatavad materjalid
ISolate'i põhilahus
• Irvine Scientific, Inc-i kataloogi nr 99275
Modified Human Tubal Fluid
• Irvine Scientific, LLC nr 90126
Kultuurisöötme Sperm Washing Medium
• Irvine Scientific, Inc-i kataloogi nr 9983
Tsentrifuug
• Irvine Scientific, Inc-i kataloogi nr IS-300
Steriilsed ühekordsed koonilised tsentrifuugikatsutid
Pasteuri pipetid, steriilsed
Inkubaator, 37 °C

B. Gradiendi ettevalmistamine
Gradiendiga sperma eraldamise meetodi tähtimiseks on vaja kahte lahust: ülemise ja alumise kihi lahust.

1. Ülemise kihi lahus – 50%
   a) Võtke STOCK SOLUTION (kataloogi nr 99275) ja pipetige 5,6 ml steriilsesse tsentrifuugikatsutisse.
   b) Lisage 4,4 ml toodet Modified Human Tubal Fluid. (Kataloogi nr 90126)
   c) Asetage katsutile kork ja pöörake seda õrnalt 3–4 korda, et võimaldada täielikku segunemist.
   d) Märgistage katsuti sildiga ÜLEMINE KIHT.
2. Alumise kihi lahus – 90%
   a) Võtke STOCK SOLUTIONIST 10 ml alikvoot. Asetage see steriilsesse tsentrifuugikatsutisse ja paigaldage sellele kork – (edasisi lahjendusi pole vaja leha – põhilahus on 90%).
   b) Märgistage katsuti sildiga ALUMINE KIHT.
3. Jätkake toote infolehe jaotisega ÜLDPROTSEDUUR. (MÄRKUS. 10 ml ülemine kiht ja 10 ml alumine kiht töötlevad umbes viis spermaproovi.)

Märkus. 50% ja 90% tingimused ei kujuta tegelikku kontsentratsioon. 50% ja 90% on suhtelised kontsentratsioonid, mis põhinevad varasemal nomenklatuuril, mis määras Percoll®-i lahuse vahekorras 1 : 9, mis võrdub 100% töötava isotoonilise lahusega.

ÜLDPROTSEDUUR

Järgnev on üldprotseduur liikuva sperma eraldamiseks seemnevedelikust kaheetapilise gradiendiga. Mahtu ja kontsentratsiooni saab iga labori eelistustele vastamiseks muuta (st minigradient, külmsäilitatud sperma, kolmekihiline gradient).

1. Tooge kõik sööte komponendid toatemperatuurile või 37 °C juurde.
2. Viige steriilse pipeti abil 1,5–2,0 ml ALUMISEST KIHIST steriilsesse ühekordsesse kooniilisse tsentrifuugikatsutisse.
3. Viige uue steriilse pipetiga võrdne kogus ÜLEMISEST KIHIST ALUMISELE KIHILE. Seda tehakse, viies ALUMISE KIHI pinna katsuti küljelt kokku pipeti otsaga. Vabastage ettevaatlikult ÜLEMINE KIHT, keerates pipeti otsa ülespoole liikudes ümber katsuti, samal ajal kui ULEMISE KIHI tase tõuseb.
4. Asetage uue steriilse pipetiga 1,5–2,0 ml veeldatud spermat ÜLEMISELE KIHILE.
5. Tsentrifuugige 10–20 minutit umbes 200–300 × g.* Tühjendage pellet ühe lähenemisega ülemise ja ALUMISE KIHI aspireerimisega või pelleti otsese eemaldamise ning üleviimisega uude steriilsesse tsentrifuugikatsutisse.

Märkus. Spermaproovi kvaliteet tuleb hinnata ning sellega arvestada tsentrifuugimise õige kiiruse ja aja määramisel. Neid tuleb kohandada üksikproovide kvaliteedile, et protseduuri optimeerida.

6. Lisage uue steriilse pipeti abil valgusisaldusega 2.0–3.0 ml sobivat loputussöödet, näiteks kulturisöötde Sperm Washing Medium (IS-kataloogi nr 9983) või toodet Modified HTF (IS-kataloogi nr 90126). Resuspendeerige isoleeritud pellet. Tsentrifuugige (u 200 × g) 8–10 minutit ja eemaldage supernatant. Korrake seda sammu teise loputuse korral. Kõrvaldage supernatant ja resuspendeerige pellet sobiva koguse asjakohase söötmega. Proov on nüüd analüüsimiseks valmis.

Lisateabe saamiseks nende toodete kasutamise kohta peavad laborid tutvuma oma protseduuride ja protokollidega, mis on välja töötatud ja optimeeritud spetsiaalselt nende individuaalse meditsiiniprogrammi jaoks.

SÄILITUSJUHISED JA STABILITUS

Säilitage avamata konteinereid jahutatult temperatuuril 2–8 °C.

Enne kasutamist soojendage toa- või inkubaatori temperatuurile (37 °C).

Ärge külmutage ega laske kokku puutuda kõrgete temperatuuridega.

ISolate on juhendi kohaselt säilitamisel stabiilne kuni karbi ja pudeli etiketidel näidatud aegumiskuupäevani.

ETTEVAATUSABINÕUD JA HOIATUSED

See seade on mõeldud kasutamiseks personalile, kes on saanud väljaõppe abistatud viljastamisprotseduuride alal. Need protseduurid hõlmavad seadme sihtotstarbelist kasutamist.

Vahendit kasutav asutus vastutab toote jälgitavuse eest ja peab vajaduse korral järgima jälgitavust puudutavaid riiklikke eeskirju.

ISolate on läbipaistmatu. See on selle toote puhul normaalne. Ärge kasutage ühtegi selliset söötme vialli, kus on tahkeid osakesi või mis on saastunud (ebaühtlane hägusus).

PH-taseme muutuste vältimiseks peab ISolate olema CO_2-inkubaatoris kasutamisel tihedalt korgiga suletud.

Teavet teadaolevate omaduste ja tehniliste tegurite kohta, mis võivad tekitada ohtu toote taaskasutamisel, ei ole leitud ning seetõttu ei tohi tootet pärast esmakasutust uuesti kasutada.

Kahjustuste korral mitte kasutada. Kõrvaldage või tagastage tootjale asendustoote saamiseks.

MAGYAR

EU figyelmeztetés: Kizárólag professzionális felhasználásra.

FELHASZNÁLÁSI JAVALLATOK

Az ISolate az emberi spermával végzett műveleteket magukba foglaló asszisztált reprodukciós eljárásokhoz tervezték. Az ISolate a sperma mozgásra képes frakciójának a magfolyadékból való elválasztására szolgál.

TERMÉKISMERTETŐ

Az ISolate egy sűrűséggradiens-közeg, amelyet a sperma mozgásra képes frakciójának a magfolyadékból való elválasztására terveztek. Kétfázisú gradiensrendszerének hatékonyan csökkenti az olyan sejtes szennyeződéseket, mint az elhalt spermiumok, fehérvérsejtek és egyéb szövettörmelékek. A kapott minta elsősorban mozgásra képes spermát tartalmaz.

ÖSSZETÉTEL

Sók és ionok	Energiaszubsztrát
Nátrium-klorid	Glükóz
Kálium-klorid	Nátrium-piruvát
Magnézium-szulfát	Nátrium-laktát
Kálium-foszfát	
Kalcium-klorid	Egyéb
	Szilícium-dioxid részecskék kolloidoldata
Puffer	
Nátrium-bikarbonát	
HEPES	

MINŐSÉGBIZTOSÍTÁS

Az ISolate HEPES-sel pufferelt HTF-ben kovalens kötésű hidrofil szilánnal stabilizált szilícium-dioxid részecskék membránszűrt, aszeptikusan feldolgozott kolloidszuszpenziója. A sterilitás megbízhatósági szintje (sterility assurance level, SAL) 10^{-3} Az ISolate-et nyulakon végzett pirogénteszttel vizsgáltak pirogénekre, és negatívnak bizonyult.

HASZNÁLATI UTASÍTÁS

Katalógusszám: 99275 – STOCK SOLUTION

90%-os sűrűségű gradienskörzeg egylépéses eljáráshoz vagy további hígítással történő felhasználásra.

A. Javasolt anyagok:
ISolate Stock Solution
• Irvine Scientific, LLC Katalógusszám: 99275
Modified Human Tubal Fluid
• Irvine Scientific, LLC Katalógusszám: 90126
Sperm Washing Medium
• Irvine Scientific, LLC Katalógusszám: 9983
Centrifuga
• Irvine Scientific, LLC Katalógusszám: IS-300
Steril, egyszer használatos kúpos centrifugacsövek
Steril Pasteur-pipetták
Inkubátor, 37 °C

B. Gradiens elkészítése:
A gradienslapú spermaválasztási módszer végrehajtásához két oldat szükséges: Egy felső réteg és egy alsó réteg.

1. Felső réteg oldata – 50%:
   a) Fogja meg a STOCK SOLUTION oldatot (Katalógusszám: 99275), és pipettázzon 5,6 ml-t egy steril centrifugacsőbe.
   b) Adjon hozzá 4,4 ml Modified Human Tubal Fluid oldatot (Katalógusszám: 90126).
   c) Kupakkal zárja le a csövet, és finoman fordítsa le-fel 3–4 alkalommal, hogy lehetővé tegye a teljes keverédést.
   d) Címkézze fel a csövet „FELSŐ RÉTEG" megjelöléssel.
2. Alsó réteg oldata – 90%:
   a) Mérjen be egy centrifugacsőbe 10 ml-nyi alikvot STOCK SOLUTION oldatot, és kupakkal zárja le – (További hígítások nem szükségesek – A Stock Solution 90%-os).
   b) Címkézze fel a csövet „ALSÓ RÉTEG" megjelöléssel.
3. Folytassa a termékleírás ÁLTALÁNOS ELJÁRÁS szakaszában leírtak szerint. (MEGJEGYZÉS: 10 ml felső réteg és 10 ml alsó réteg körülbelül 5 spermaminta feldolgozását tudja elvégezni).

Megjegyzés: Az 50% és 90% kifejezések nem tényleges koncentrációt jelentenek. Az 50% és 90% olyan relatív koncentrációk, amelyek azon korábbi nómenklatúrán alapulnak, amely az 1:9-hez Percoll® oldatot 100%-os izotonikus munkaoldatként határozta meg.

ÁLTALÁNOS ELJÁRÁS

A mozgásra képes hímivarsejtek ondófolyadékból történő elválasztásának kétlépéses általános eljárása a következő. A térfogat és a koncentráció módosítható, hogy megfelelejenek az egyes laboratóriumok preferenciájának (azaz minigradiens, kriotartósított ondó, háromréteges gradiens).

1. Melegítse valamennyi közegkomponenst szobahőmérséklete vagy 37 °C-ra.
2. Steril pipetta használatával vigyen át az „ALSÓ RÉTEG" jelölésű 1,5–2,0 ml-t egy steril, egyszer használatos kúpos centrifugacsőbe.
3. Egy új, steril pipetta használatával vigyen át a „FELSŐ RÉTEG" jelölésű azonos térfogatot az „ALSÓ RÉTEG" tetejére. Ezt legkönnyebben úgy teheti meg, hogy az „ALSÓ RÉTEG" felszínéhez érinti a pipetta hegyét a cső oldalánál. Óvatosan adagolja a „FELSŐ RÉTEG" jelölésű az első kerülete mentén spirálvonalban, felfelé irányuló mozgással haladva, annak megfelelően, ahogyan a „FELSŐ RÉTEG" emelkedik.
4. Egy új, steril pipetta használatával óvatosan helyezzen el 1,5–2,0 ml elfolyósított ondót a „FELSŐ RÉTEG" jelölésűn.
5. Centrifugálja 10–20 percig körülbelül 200–300 × g-vel.* Óvatosan tegye hozzáférhetővé a pelletet a „FELSŐ" és az „ALSÓ RÉTEG" leszívatásával vagy a pellet közvetlen eltávolításával és új, steril centrifugacsőbe való átvételével.

Megjegyzés: A spermaminta minőségét értékelni kell, és figyelembe kell venni, amikor a megfelelő centrifugálási sebesség és idő meghatározásakor. Ezeket az egyéni minta minősége szerint az eljárás optimalizálása érdekében módosítani kell.

6. Egy új, steril pipetta használatával adjon 2,0–3,0 ml-nyi megfelelő mosóközeget, mint amilyen a Sperm Washing Medium (IS katalógusszám: 9983) vagy Modified HTF (IS katalógusszám: 90126) fehérjepótlással. Ismételten szuszpendálja fel az izolált pelletet. Centrifugálja 8–10 percig (~200 × g-vel), és