

LANGUAGES

English	2
Spanish	8
Italian	14
Control changes	20

INSTRUCTIONS FOR USE

This kit is for the collection and preservation of samples until they arrive at the Igenomix facilities. These instructions are for the embryologist. The kit will transport embryo samples. The materials included in this kit can only be used by medical professionals, always in medical settings. This is not a self-assessment kit. This kit is not automated.

The kit will be used for the following diagnostic tests: **PGT-SR, Smart PGT-A, Smart PGT-A/SR Plus and PGT-M.**

Basic information

- **PGT-SR (Preimplantation Genetic Testing for Structural Rearrangements)**

A genetic analysis appointment with Igenomix (labpgsspain@igenomix.com) is required first to assess the suitability and method of a PGT-SR. The possible outcomes are:

- Instant PGT-SR, with no need for prior study.
- The need for a prior study to assess the suitability of the test (pre-PGT-SR). In this case, we will need a blood sample from the carrier in an EDTA tube. We will perform NGS on this sample and see if it is possible to detect potential imbalances in the embryos. (EDTA tube not included in this kit).

- **Smart PGT-A (Preimplantation Genetic Testing for Aneuploidies)**

- **Smart PGT-A/SR Plus (Preimplantation Genetic Testing for Aneuploidies, Structural Chromosomal Rearrangements, Ploidies and embryo quality control)**

The Smart PGT-A/SR Plus is an optional analysis that adds the evaluation of ploidy and embryo quality control. The triploid and haploid differences are the most common ploidy abnormalities and are incompatible with normal growth and development. Embryo quality control includes the analysis of the relatedness between samples in a cohort and the presence of external DNA contamination.

- **PGT-M (Preimplantation Genetic Testing for Monogenic Disorders)**

A genetic analysis appointment with Igenomix (pgdmonogenicspain@igenomix.com) is required to assess the suitability and method of a PGT-M

- The need for a prior study (pre-PGT-M). The results of the genetic analysis will indicate the blood/saliva/buccal swab samples required for performing the test. Igenomix will provide a kit for the purpose of obtaining these samples.



Call +34 963 905 310 or contact us by email.

Smart PGT-A, PGT-SR and Smart PGT-A/SR Plus: supportspain@igenomix.com, labpgsspain@igenomix.com or embryology@igenomix.com

PGT-M: supportspain@igenomix.com, pgdmonogenicspain@igenomix.com or embryology@igenomix.com

- Request more information about the test
- Resolve any queries about the report
- Acquire the test
- Request printed versions or information in other languages at no extra cost.

- Before beginning a PGT cycle, it is important to have the correct documents prepared. This depends on the type of service requested:

- No biopsy or tubing services required:
 - For fresh PGT transfers: Complete the document (request form) before the embryo biopsy and send it by email to **labsamples@igenomix.com, labpgsspain@igenomix.com and embryology@igenomix.com.**
 - For deferred PGT transfers: you are not required to send the request form by email prior to the biopsy.

- Biopsy service required: send the request form with as much information as possible when you are about to start the patient COS (Controlled Ovarian Stimulation).

If you do not have the request form, please send the following information as soon as possible to **embryology@igenomix.com** (at least 1 week before the biopsy):

- Unique patient identifier/Clinical record number + patient initials.
- Start date of ovarian stimulation.
- Possible ovarian puncture date.

Include all the documents (request form + biopsy form) inside the box provided by Igenomix.

INSTRUCTIONS FOR USE



Step 2: Receiving the KIT

Check the contents of the PGT kit (it is VERY IMPORTANT to handle the contents with gloves to prevent contamination) and ensure it contains:

- 1 small box containing all the kit items:
 - 3 tubes with washing and tubing solution (washing/loading).
 - 20 PCR tubes.

The kit can arrive at room temperature. Check the expiry date on the tubes and then store the box in a fridge at 4 °C until you are going to use it.

Note: If the expiry date has elapsed or the package is damaged, dispose of it in accordance with current local regulations and contact Igenomix to get a new kit.



Step 3: Sample collection

Warnings/Precautions:

The following may lead to our laboratory rejecting the sample:

- Documents (request and informed consent form) are not properly completed.
- The mandatory fields marked with an asterisk (*) have not been filled in.
- The signature of the patient and the requesting doctor is missing on the request and informed consent form.
- The karyotype is not included on the request form in the case of PGT-SR requests.
- Samples are incorrectly labelled.
- Use only the washing and tubing solution provided in the Igenomix kit. Using other solutions may affect the accuracy of the test and impact the results.

The thermally insulated box which comes with this kit should only be used for transporting samples.

Please include the identification details of the person collecting the sample.

PGT-SR: Only admits biopsy of the blastocyst on day 5/6/7 of development and deferred transfer: biopsy of 4-8 trophectoderm cells required. The biopsy can only be made on day 3* and a fresh transfer in the case of PGT-SR for Robertsonian translocations.

Smart PGT-A: Admits both single-cell biopsy on day 3* of development and trophectoderm biopsy.

*Check suitability with your local Igenomix laboratory.

Smart PGT-A/SR Plus: Only admits biopsy of the blastocyst on day 5/6/7 of development and deferred transfer.

PGT-M: Admits biopsy of the blastocyst on day 5/6/7 of development: biopsy of 4-8 trophectoderm cells. Ask about suitability of biopsy on day 3.

See tubing procedure in Annex 1.

Note: Igenomix recommends contacting authorized waste disposal companies for the correct disposal of medical products such as leftover solutions (washing/tubing) and empty containers (washing/tubing solution containers). Please ensure to comply with current local regulations in your place of work.



Step 4: Transporting the sample

Ensure you have all the items Igenomix provides for transport:

- 1 thermally insulated box
- 1 padded envelope
- 2-3 red ice packs (store at -20 °C, at least 24 hours before sending the sample)
- 1 cool rack inside the envelope (store at -20 °C). Do not remove the rack from the envelope until ready to use.

INSTRUCTIONS FOR USE

To prevent the sample stability from being compromised, which could lead to a test failure, we recommend following these instructions:

1. Identify the samples as explained in the Tubing Procedure (Annex 1).
2. Insert the cool rack with all the samples inside the freezer (-20 °C) for at least one hour before shipping.
3. If the samples are to be shipped on a different day to the biopsy sampling, we recommend keeping the rack and samples at -20 °C until shipping.
4. Insert the previously frozen rack with the samples inside the white padded envelope provided by Igenomix. Place the frozen rack between the ice packs inside the thermally insulated box, in the same way it was sent by Igenomix. To keep the rack frozen during shipping, it is very important to use the ice packs provided by Igenomix and not any others.
5. Fold and place the signed and completed informed consent and request forms inside the box for shipping.



Step 5: Sample pick-up

For picking up the sample in Spain, the EU and other countries:

 **+34 965 023 460**  **pickup@igenomix.com**

To prevent the sample stability from being compromised, which could lead to a test failure, we recommend following these instructions:

Pick-ups in Spain:

- Monday to Friday
- A 3-hour time margin is required to arrange for sample pick-ups.

Pick-up in the EU and other countries:

- Check availability with our customer service department.
- A 24-hour time margin is required to arrange for sample pick-ups.

For picking up the sample in Italy:

 **+39 0424472449**  **supportitalia@igenomix.com**

Collection in Italy:

- Monday to Friday.
- A 24-hour time margin is required to arrange for sample pick-ups.

Holidays: The aforementioned days may differ in the event of holidays. In such cases, our customer service department will notify you in advance of the available pick-up days.

We recommend sending samples as quickly as possible in order to ensure the quality of the sample.



Step 6: Test results

Igenomix will send the test results to the email address or addresses the clinic has written on the request form.

• PGT-A and PGT-SR samples with deferred transfer:

Test results will be available 7 business days after Igenomix receive the sample.

• PGT-A and PGT-SR samples with fresh transfer (only Robertsonian translocations):

Test results will be available the morning after the day Igenomix receives the samples.

• PGT-M samples:

Test results will be available 10 business days after Igenomix receive the sample.

• Smart PGT-A Plus and PGT-SR Plus:

Test results will be available in a time depending on the type of study requested.

INSTRUCTIONS FOR USE



Additional information

In the event of serious incidents:

Any serious incident that may occur in relation to the materials included in the kit supplied must be reported to **vigilance@igenomix.com** and to the competent health authority in the Member State where the user and/or patient is located.

Symbols key:



Manufacturer



Date of expiry



European Conformity



Medical device for *in vitro* testing



Keep away from sunlight



Temperature limit



Do not use if the package is damaged



Contains biological material of human origin



Do not reuse



Keep dry



Check the instructions for use.



Annex 1: TUBING PROCEDURE

For PGT (blastomere or trophectoderm)

Equipment, instruments and reagents required (for PGT-A, PGT-SR and PGT-M):

- Laminar flow cabin (preferably with UV light).
- Magnifying glass for cell manipulation.
- Automatic pipette: 1µL-10µL. We recommend using one exclusively for this PGT procedure to prevent contamination. Otherwise, please sterilize with decontamination solution.
- Filtered sterile tips, where possible DNase/RNase-free.
- Micromanipulation pipette, such as Stripper or Flexipet to perform manual tubing with volume measurement.
- Polycarbonate capillary pipette tubes of diameter between 100-150µm [such as: VITROMED Denuding Pipettes - V-DEN or RI (Origio) - EZ-Tip®].
- 60mm-Petri dishes or other dishes suitable for ICSI
- 0.2ml PCR tubes – provided by IGENOMIX.
- Cool rack – provided by IGENOMIX.
- COLD mineral oil.
- DNA AWAY™ Surface decontamination solution (or alternative such as: Oosafe, Fermacidal, Soap 7X, etc.).
- Washing/tubing solution (Washing/Loading solution) – provided by IGENOMIX.

Method:

To avoid contamination:

- We recommend the tubing procedure be performed in a laboratory separate from, but close to, the IVF laboratory, which has its own ventilation system. In this case, all cleaning procedures must be carried out with 70% ethanol solution as decontamination solution.
- If it were not the case, non-embryo toxic decontamination solutions should be used for cleaning the material.
- The embryologist must wear personal protective equipment (mask, gloves, hair/beard cover). As little skin as possible must be exposed in the hood to prevent DNA contamination.
- Disinfected or sterile gloves must always be used when handling materials and samples.
- We recommend using equipment and materials used exclusively for PGT.
- Disposable equipment must always be freshly opened or specially reserved for PGT (always handled with gloves).
- We recommend handling the samples in clean rooms, where possible separate from other activities.
- Avoid processing DNA in this room, as well as in the cooler/freezer where the buffers are stored (washing solutions).
- Clean all the material well with decontamination solution (always using gloves) taking extra care to prevent DNA contamination.

Preparation:

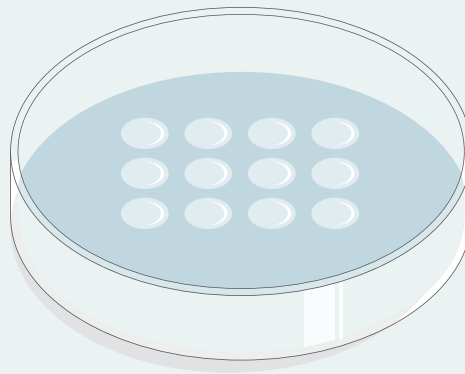
Before beginning the process, we recommend you have all the material prepared so tubing can be performed immediately after performing the embryo biopsy.

- All non-disposable material used in the hood tubing area must be cleaned (always using gloves) with the chosen decontamination solution – preferably DNA AWAY™, or Oosafe/Fermacidal – as well as the hood surface and magnifying glass.
- All disposable equipment must be freshly opened or for exclusive PGT use so long as it has always been handled with gloves.
- If UV light is available, all material (NOT THE EMBRYOS) must remain exposed to the light for 5 minutes before the procedure.
- Prepare the PCR tubes depending on the number of embryo biopsies, filling them with 2.5µL of the Washing/Loading buffer provided by Igenomix (we recommend you prepare additional tubes).
- Shake the PCR tubes with the Washing/Loading buffer, checking there are no bubbles in the solution. Ensure the buffer volume remains at the bottom of the tube. If no centrifugation methods are available, vigorously shake the tubes manually.
- If you are not able to perform the tubing immediately, place the PCR tubes in a cool rack and keep them in the freezer (-20°C) until the tubing process begins. If tubing is performed immediately, place the tubes in the hood at room temperature.
- DO NOT label the tubes until the biopsy is finished, but do so before starting with the tubing process.

Annex 1: TUBING PROCEDURE

For PGT (blastomere or trophectoderm)

- Washing plate: prepare a 60mm Petri dish (or an ICSI one) according to the diagram below. You will need a row of 4 drops for each biopsy sample. Each drop must contain 10µL of the washing buffer (Washing/Loading) provided by Igenomix, which is then covered with cold mineral oil. There can be a maximum of 6 rows per dish (corresponding to 6 samples).



WASHING PLATE

Sample collection:

1. Perform the procedure at room temperature, the hood surface must be cold.
2. After the biopsy and immediately before tubing, the 0.2ml PCR tubes must be labelled using a marker with the patient initials and embryo number.
3. If the 0.2ml PCR tubes are already prepared and stored in the freezer, take them out and put them in the hood so they thaw just before tubing. Ensure that the loading buffer is in liquid form and there are no bubbles.
4. Apart from the washing plate, prepare another plate at the time of tubing with a large drop (~100µL) of washing media but do not cover with oil. This drop will be used to clean the capillary pipette tube each time you place a sample. Therefore, you should prepare 1 for each 1-2 embryo biopsies.
5. Use a new capillary pipette tube for each individual cell (day 3 biopsy) or per trophectoderm biopsy.
6. Each blastomere or trophectoderm sample should be rinsed in the first 3 drops of each row of the washing plate. Load the capillary pipette tube with clean washing buffer from the large drop each time you aspirate the sample. Place the sample in the 10µL washing buffer drop and discard the remaining solution in the capillary pipette before loading it once again with clean solution.
7. When you get to the third drop, repeat the clean buffer loading process in the capillary pipette, aspirate the sample and insert it into the PCR tube, loading it under the magnifying glass in the 2.5µL deposited at the bottom of the tube. The embryologist should see how the biopsy enters the tube under the magnifying glass. This is a key stage in the process and the biopsy must be released inside the tube with as little washing buffer as possible (maximum 1.5µL).
8. The fourth drop of each row is reserved for checking the capillary pipette in the event that the embryologist does not see the sample being released into the PCR tube. If the biopsy appears in the fourth drop, discard the PCR tube where you were supposed to have inserted the biopsy and load the sample in a newly-labelled PCR tube.
9. As you collect the samples, place them in the cool rack and complete the biopsy form matching the identification details to the samples in the PCR tubes. This form must be sent with the samples to Igenomix.
10. For PGT-M cases, we request a blank per embryo for day-3 biopsies. For trophectoderm samples, it is enough to perform one blank per case and day.
11. For PGT-A, we recommend sending one blank per case.
12. Creating blanks: after releasing each sample into the PCR tube and checking it does not remain in the capillary pipette, aspirate a small amount of the washing media from the last drop where the biopsy was released and insert it into a new tube.
13. Close the tubes well and place them in the rack.
14. Insert the cool rack with all the samples inside the freezer (-20°C) for at least one hour before shipping. If the samples are to be shipped on a different day to the biopsy sampling, we recommend keeping the rack containing the samples at -20°C until shipping.
15. To prepare for shipping, place the rack in the padded envelope and place it in the thermally-insulated box between the 2 ice packs, just as it came. Do not forget to include the PGT form in the box.

Note: Igenomix recommends contacting authorized waste disposal companies for the correct disposal of medical products such as leftover solutions (washing/loading) and empty containers (washing/loading solution containers). Please ensure to comply with current local regulations in your place of work.

If you have any questions, please contact embryology@igenomix.com.

INSTRUCCIONES DE USO

El uso previsto de este kit es la recolección y conservación de la muestra hasta llegar a las instalaciones de Igenomix. Estas instrucciones van dirigidas al embriólogo. El kit transportará muestras embrionarias. Los materiales incluidos en este kit sólo pueden ser utilizados por un profesional sanitario y siempre dentro del contexto médico. Este no es un kit de autoevaluación. Este kit no está automatizado.

El kit será utilizado para los siguientes servicios de diagnóstico: **PGT-SR, Smart PGT-A, Smart PGT-A/SR Plus y PGT-M.**

Conceptos Básicos

- **PGT-SR (Test Genético Preimplantacional para Alteraciones Cromosómicas Estructurales)**
Se precisa consulta genética previa con Igenomix (labpgsspain@igenomix.com) para valorar posibilidad y estrategia de PGT-SR. Las posibilidades tras la valoración pueden ser:
 - PGT-SR directo, sin necesidad de estudio previo.
 - Necesidad de estudio previo (pre-PGT-SR) para la valoración. En este caso, será necesario recibir una muestra de sangre del portador en tubo EDTA, para realizar NGS en la misma y evaluar si es posible detectar los posibles desequilibrios en los embriones. (El tubo EDTA no está incluido en este Kit).
- **Smart PGT-A (Test Genético Preimplantacional para Aneuploidías)**
- **Smart PGT-A/SR Plus (Test Genético Preimplantacional para Aneuploidías, Alteraciones Cromosómicas Estructurales, Ploidía y control de calidad del embrión)**
El Smart PGT-A/SR Plus es un análisis opcional que añade la evaluación de la ploidía y el control de calidad del embrión. La triploidía y la haploidía son las anomalías de ploidía más comunes y son incompatibles con un crecimiento y desarrollo normales. El control de calidad del embrión incluye el análisis de parentesco entre embriones hermanos y la presencia de contaminación con ADN no embrionario.
- **PGT-M (Test Genético Preimplantacional para Enfermedades Monogénicas)**
Se precisa consulta genética previa con Igenomix (pgdmonogenicspain@igenomix.com) para valorar posibilidad y estrategia de PGT-M
 - Necesidad de estudio previo (pre-PGT-M). En la respuesta a la consulta genética se indicarán las muestras de sangre/saliva/células bucales necesarias para su realización. Igenomix proporcionaría un kit independiente para la obtención de estas muestras.



Paso 1: Contacte con nosotros

Llame al **+34 963 905 310** o contacte con nosotros por email.

Smart PGT-A, PGT-SR and Smart PGT-A/SR Plus: supportspain@igenomix.com, labpgsspain@igenomix.com o embryology@igenomix.com

PGT-M: supportspain@igenomix.com, pgdmonogenicspain@igenomix.com o embryology@igenomix.com

- Pida más información del test
- Consulte dudas sobre el informe
- Contrate el test
- Solicite la documentación impresa o en otros idiomas, sin coste adicional
- Antes de empezar un ciclo de PGT es importante comprender los requisitos de documentación. Ello dependerá del tipo de servicio solicitado:
 - Si no requiere de los servicios de biopsia y tubing:
 - Para transferencias de PGT en fresco: cumplimentar la documentación (hoja de solicitud) antes de la biopsia embrionaria, y enviar por e-mail a **labsamples@igenomix.com**, **labpgsspain@igenomix.com** y **embryology@igenomix.com**.
 - Para transferencias de PGT en diferido: no es necesario mandar la hoja de petición por e-mail previo a la biopsia.
 - Si se solicita servicio de biopsia: enviar la hoja de petición cumplimentada en la medida de lo posible cuando se vaya a comenzar la EOC (Estimulación Ovárica Controlada) de la paciente.
Si no se dispone de la hoja de solicitud, mandar lo antes posible a **embryology@igenomix.com** la siguiente información (al menos 1 semana antes de la biopsia):
 - Identificador único del paciente/Número de historia clínica + Iniciales paciente.
 - Fecha inicio estimulación ovárica.
 - Posible fecha punción ovárica.

Incluir toda la documentación (hoja de solicitud + hoja de biopsia) dentro de la caja proporcionada por Igenomix.

INSTRUCCIONES DE USO



Paso 2: Recepción del KIT

Revise el contenido del Kit PGT (MUY IMPORTANTE manipular contenido con guantes para evitar contaminaciones) y asegúrese de que contiene:

- 1 cajita con los componentes del Kit::
 - 3 tubos con solución de lavado y tubing (washing/loading).
 - 20 tubos de PCR.

Puede recibir el Kit a temperatura ambiente, una vez recibido verificar la fecha de caducidad de los tubos, y mantener la cajita refrigerada a 4 °C hasta el momento de su uso.

Nota: En caso de haber expirado la fecha de caducidad o estar dañado el envase, desechar de acuerdo con la legislación local vigente y contactar con Igenomix para recibir un nuevo kit.



Paso 3: Toma de la muestra

Advertencias/Precauciones:

Los siguientes casos pueden suponer la no aceptación de la muestra por parte de nuestro laboratorio:

- La documentación (formulario solicitud y el consentimiento informado) no se ha cumplimentado correctamente.
- Los campos obligatorios, identificados en los formularios con un asterisco (*), no se encuentran cumplimentados.
- La ausencia de la firma del paciente y del médico solicitante en el formulario de solicitud y consentimiento informado.
- La ausencia del cariotipo en el formulario de solicitud, en casos solicitados para PGT-SR.
- Un etiquetado incorrecto de las muestras.
- Use solo la solución de lavado y tubing suministrada en el kit de Igenomix. El uso de otras soluciones podría alterar el rendimiento del test y los resultados.

La caja térmica que acompaña a este Kit debe ser utilizada únicamente para el transporte de muestras.

Asegúrese de incluir la identidad de la persona que toma la muestra.

PGT-SR: Admite únicamente biopsia de blastocisto en día 5/6/7 de desarrollo y transfer en diferido: biopsia de 4-8 células de trofoectodermo. Sólo se puede realizar biopsia en día 3* y transfer fresco en casos de PGT-SR para translocaciones Robertsonianas.

Smart PGT-A: Admite tanto biopsia de célula única en día 3* de desarrollo como biopsia de trofoectodermo.

*Consulte posibilidad con su laboratorio Igenomix de referencia.

Smart PGT-A/SR Plus: Admite únicamente biopsia de blastocisto en día 5/6/7 de desarrollo y transferencia en diferido.

PGT-M: Admite biopsia de blastocisto en día 5/6/7 de desarrollo: biopsia de 4-8 células de trofoectodermo. Preguntar por la posibilidad de biopsia en día 3.

Ver el protocolo de tubing en el Anexo 1.

Nota: Tanto para los sobrantes y soluciones no aprovechables (restos líquidos de solución de lavado y tubing), así como los recipientes vacíos (envases de soluciones de lavado y tubing), Igenomix recomienda contactar con empresas gestoras de residuos autorizadas para la gestión de residuos de servicios médicos y siempre en cumplimiento con la normativa legal vigente en el país/región donde se haya realizado.



Paso 4: Transporte de la muestra

Asegúrese de que tiene los elementos proporcionados por Igenomix para el transporte:

- 1 caja térmica
- 1 sobre acolchado
- 2-3 acumuladores de frío rojos (guardar a -20 °C: mínimo deben estar 24 horas antes del envío de la muestra)
- 1 gradilla acumuladora de frío (rack) dentro del sobre (guardar a -20 °C). No sacar el rack del sobre hasta su uso.

INSTRUCCIONES DE USO

Para que la estabilidad de la muestra no se vea comprometida, lo que puede llevar a un fallo del test, se recomienda seguir las siguientes instrucciones:

1. Identifique las muestras como se indica en el protocolo de Tubing (Anexo 1).
2. Introduzca el rack refrigerado con todas las muestras dentro del congelador (-20 °C) durante, al menos, una hora antes del envío.
3. Si las muestras van a ser enviadas en un día distinto al de la toma de biopsia, se recomienda mantener el rack con las muestras a -20 °C hasta el envío.
4. Introduzca el rack previamente congelado con las muestras, dentro del sobre blanco acolchado proporcionado por Igenomix. Deposite el rack congelado entre los acumuladores de frío dentro de la caja térmica, de la misma forma en la que Igenomix lo ha enviado. Para mantener congelado el rack durante el envío, es muy importante que se usen los acumuladores proporcionados por Igenomix y no otros.
5. Doble y sitúe el consentimiento informado y el formulario de solicitud, previamente firmados y cumplimentados, en la caja de envío.



Paso 5: Recogida de la muestra

Para la recogida de la muestra en España, EU y otros países:

+34 965 023 460 pickup@igenomix.com

Para que la estabilidad de la muestra no se vea comprometida, lo que puede llevar a un fallo del test, se recomienda seguir las siguientes instrucciones:

Recogidas en España:

- De Lunes a Viernes
- Para coordinar la recogida de muestras se precisa de un margen de tiempo de 3 horas.

Recogidas en EU y otros países:

- Consultar disponibilidad con el departamento de atención al cliente.
- Para coordinar la recogida de muestras se precisa de un margen de tiempo de 24 horas.

Para la recogida de la muestra en Italia:

+39 0424472449 supportitalia@igenomix.com

Recogidas en Italia:

- De Lunes a Viernes.
- Para coordinar la recogida de muestras se precisa de un margen de tiempo de 24 horas.

Festivos: Los días anteriormente indicados pueden verse modificados por festivos. En dichos casos se le comunicaría previamente a la recogida los días disponibles desde nuestro departamento de atención al cliente.

Se recomienda realizar el envío de muestras a la mayor brevedad posible con el fin de garantizar la calidad de la muestra.



Paso 6: Resultados del test

Igenomix enviará los resultados del test a la dirección/es de correo electrónico indicadas por la clínica en el formulario de solicitud.

• Muestras PGT-A y PGT-SR con transferencia en diferido:

Los resultados del test estarán disponibles en un plazo de 7 días laborables desde la recepción de la muestra en Igenomix.

• Muestras PGT-A y PGT-SR (Sólo traslocaciones Robertsonianas) con transferencia en fresco:

Los resultados del test estarán disponibles durante la mañana del día posterior a la recepción de las muestras en Igenomix.

• Muestras PGT-M:

Los resultados del test estarán disponibles en un plazo de 10 días laborables desde la recepción de la muestra en Igenomix.

• Muestras Smart PGT-A Plus y PGT-SR Plus:

El resultado del test estará disponible en un tiempo variable dependiendo del tipo de estudio solicitado.

INSTRUCCIONES DE USO



Información adicional

Para incidentes graves:

Cualquier incidente grave que pueda producirse en relación con los materiales incluidos en el kit suministrado, debe ser notificado a vigilance@igenomix.com así como a la autoridad sanitaria competente del Estado Miembro en el que se encuentre el usuario y/o el paciente.

Leyenda de símbolos:



Fabricante



Fecha de caducidad



Conformidad Europea



Producto sanitario para diagnóstico *in vitro*



Manténgase fuera de la luz del sol



Límite de temperatura



No utilizar si el envase está dañado



Contiene material biológico de origen humano



No reutilizar



Manténgase seco



Consúltense las instrucciones de uso.



Anexo 1: PROTOCOLO DE TUBING

Para PGT (blastómera o trofoectodermo)

Equipos, instrumentos y reactivos necesarios (para PGT-A, PGT-SR y PGT-M):

- Cabina de flujo laminar (preferiblemente con luz UV).
- Lupa para manipulación celular
- Pipeta automática de 1µL-10µL. Es recomendable su uso exclusivo para PGT con el fin de evitar contaminaciones. En caso de múltiple uso esterilizar bien con producto descontaminante.
- Puntas estériles con filtro, a poder ser DNAsa/RNAsa free.
- Micropipeta tipo Stripper o Flexipet, cualquier dispositivo para realizar tubing manual con medidor volumétrico.
- Capilares de policarbonato de diámetro entre 100-150µm [por ejemplo: VITROMED Denuding Pipettes - V-DEN or RI (Origio) - EZ-Tip[®]].
- Placas Petri de 60mm o en su defecto placas para ICSI
- Tubos de PCR de 0.2mL – proporcionados por IGENOMIX.
- Gradilla acumuladora de frío (rack)- proporcionada por IGENOMIX.
- Aceite mineral FRÍO
- Descontaminante DNA AWAY[™] Surface (sustituible por: Oosafe, Fermacidal, jabón 7X, ...).
- Solución de lavado y tubing (solución Washing/Loading) - proporcionada por IGENOMIX.

Metodología:

Notas importantes para evitar la contaminación:

- Se recomienda que el protocolo de tubing se realice en un laboratorio aparte del laboratorio de FIV pero cercano a él y con un sistema de ventilación independiente. En ese caso todos los procesos de limpieza se realizarían usando etanol al 70% como descontaminante.
- Si esto no es posible, se utilizaría los descontaminantes no embriotóxicos para la limpieza del material.
- El embriólogo deberá utilizar equipos de protección personal (máscara, guantes, cubre pelo/barba). Debe dejarse la menor cantidad posible de piel expuesta en la campana para evitar contaminación de DNA.
- Para la manipulación de materiales y muestras utilizar siempre guantes desinfectados o estériles.
- Se recomienda utilizar los equipos y materiales exclusivamente para PGT.
- Los materiales fungibles deben ser de nueva apertura o reservados exclusivamente para PGT (siempre manipulados con guantes).
- Se recomienda manipular las muestras en habitaciones limpias, a ser posible, salas separadas de otras actividades.
- Evitar manipular ADN en esta sala, así como en la nevera/congelador donde se almacenan los buffers (soluciones de lavado).
- Limpiar bien todo el material con descontaminante (siempre con guantes) prestando especial atención para evitar contaminación de ADN.

Preparación

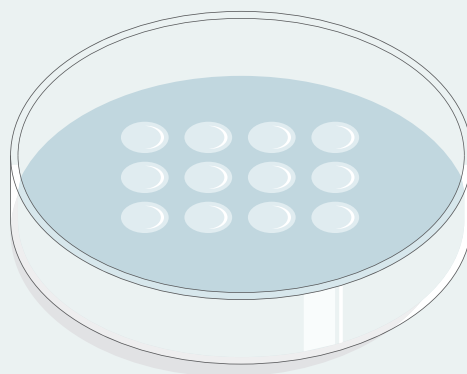
Antes de comenzar el protocolo, se recomienda preparar el material con antelación, con el fin de realizar el tubing inmediatamente después de realizar la biopsia embrionaria.

- Todo el material no fungible que se introduzca en el área de la campana para el tubing debe ser limpiado (siempre con guantes) con el descontaminante seleccionado - preferible DNA AWAY[™], en su defecto Oosafe/Fermacidal- así como la superficie de la cabina y la lupa.
- Todo el material fungible debe ser de nueva apertura o exclusivo para PGT siempre que haya sido manipulado con guantes.
- Si se dispone de luz UV todo el material (NO LOS EMBRIONES) debe quedar expuesto a la luz UV durante 5 minutos antes de empezar el protocolo.
- Preparar los tubos de PCR en función del número de embriones a biopsiar, llenándolos con 2.5µL, de la solución Washing/Loading proporcionada por Igenomix (se recomienda preparar tubos adicionales).
- Voltar los tubos de PCR con la solución Washing/Loading, verificar que no quedan burbujas en la solución y confirmar que el volumen de la solución permanece en el fondo del tubo. Si no se dispone de centrifuga, agitar vigorosamente los tubos manualmente.
- Si no es posible realizar el tubing inmediatamente, colocar los tubos de PCR en un rack refrigerado y conservarlo dentro del congelador (-20 °C) hasta el procedimiento de tubing. Si el tubing se realiza inmediatamente, depositar los tubos en la campana a temperatura ambiente.
- NO etiquetar los tubos hasta finalizar la biopsia y antes de proceder con el procedimiento de tubing.

Anexo 1: PROTOCOLO DE TUBING

Para PGT (blastómera o trofoectodermo)

- Placa de lavado: prepare una placa Petri de 60mm (o una de ICSI) según el esquema mostrado abajo. Necesita preparar una fila de 4 gotas por muestra biopsiada. Cada gota contendrá 10µL de la solución de lavado Washing/Loading proporcionada por Igenomix, y cubrir de aceite mineral frío. Como máximo se realizan 6 filas por placa (correspondientes a 6 muestras).



PLACA DE LAVADO

Toma de muestra:

1. El protocolo se realiza a T° ambiente, la superficie de la cabina debe estar fría.
2. Tras la biopsia e inmediatamente antes de realizar el tubing, los tubos PCR de 0.2mL deben ser rotulados debidamente con las iniciales de la paciente y el número del embrión.
3. Si los tubos PCR de 0.2mL están ya preparados y almacenados en el congelador, sáquelos y póngalos dentro de la cabina para dejar que se descongelen justo antes del tubing. Asegúrese que la solución de carga está líquida y sin burbujas.
4. Además de la placa de lavado, preparar una placa adicional en el momento del tubing, conteniendo una gota grande (~100µL) de medio de lavado y sin cubrir de aceite. Esta gota será utilizada para limpiar el capilar cada vez que la muestra es depositada de una gota de lavado a la siguiente, por lo que debe prepararse 1 por cada 1-2 embriones biopsiados.
5. Usar un capilar nuevo por cada célula individual (biopsia de día 3) o por biopsia de trofoectodermo.
6. Cada muestra de blastómera o trofoectodermo debe ser enjuagada en las primeras 3 gotas de cada fila de la placa de lavado. Cargar el capilar con solución de lavado limpia de la gota grande cada vez que se aspira la muestra. Depositar la muestra en la gotita de lavado de 10µL y descartar la solución restante en el capilar antes de volver a cargarlo con solución limpia.
7. Al llegar a la 3ª gota, repetir el proceso de carga de solución limpia en el capilar, aspirar la muestra e introducirla en el tubo PCR, cargándola bajo la lupa en los 2.5µL depositados en el fondo del tubo. El embriólogo debería visualizar bajo la lupa como sale la biopsia en el tubo. Este paso es un punto clave del procedimiento y la biopsia debe ser liberada dentro del tubo con el mínimo volumen de solución de lavado (máximo 1.5µL).
8. La 4ª gota de cada fila queda reservada para comprobar el capilar en caso de que no se haya visto salir la muestra dentro del tubo PCR. En caso de que la biopsia apareciera en la 4ª gota, descartar el tubo PCR donde supuestamente había introducido la biopsia y cargue la muestra en un nuevo tubo PCR nuevamente rotulado.
9. A medida que se colectan las muestras se van colocando en el rack frío, y se va cumplimentando la hoja de biopsia de la misma manera en la que se han identificado las muestras en los tubos de PCR. Esta hoja se enviará junto a las muestras a Igenomix.
10. Para casos PGT-M se solicita un blanco por embrión para biopsias de día 3. Para biopsias de trofoectodermo basta con realizar un blanco por caso y día.
11. Para PGT-A es recomendable enviar un blanco por caso.
12. Obtención del blanco: tras liberar la biopsia en el tubo de PCR y comprobar que no haya quedado en el capilar, aspirar con el mismo capilar una pequeña cantidad de medio de lavado de la última gota donde la biopsia estuvo depositada e introducirlo en un nuevo tubo.
13. Cerrar bien los tubos y depositarlos dentro del rack.
14. Introduzca el rack refrigerado con todas las muestras dentro en el congelador (-20 °C) durante, al menos, una hora antes del envío. Si las muestras van a ser enviadas en un día distinto al de la toma de biopsia, se recomienda mantener el rack con las muestras a -20 °C hasta el envío.
15. Para preparar el envío meta el rack en el sobre acolchado e introdúzcalo en la caja isotérmica entre los 2 acumuladores de frío, tal y como lo recibió. No se olvide introducir el formulario de PGT en la caja.

Nota: Tanto para los sobrantes y soluciones no aprovechables (restos líquidos de solución de lavado y loading), así como, los recipientes vacíos (envases de soluciones de lavado y loading) Igenomix recomienda contactar con empresas gestoras de residuos autorizadas para la gestión de residuos de servicios médicos y siempre en cumplimiento con la normativa legal vigente en el país/región donde se haya realizado.

Para cualquier consulta por favor contacte con embryology@igenomix.com.

ISTRUZIONI PER L'USO

L'uso previsto del kit è la raccolta e la conservazione del campione fino alla ricezione dello stesso presso i laboratori Igenomix. Le istruzioni qui contenute sono per l'embrilogio. Il kit è destinato al trasporto di biopsie di trofoectoderma. I materiali inclusi nel kit possono essere utilizzati solo da un operatore sanitario e solo in un contesto medico. Questo non è un kit di autovalutazione. Questo kit non è automatizzato.

Il kit è utilizzato per i seguenti test: **PGT-SR, Smart PGT-A, Smart PGT-A/SR Plus e PGT-M.**

Concetti di base

- **PGT-SR (Test genetico preimpianto per riarrangiamenti cromosomici strutturali)**
È necessario richiedere una fattibilità tecnica preliminare a Igenomix (labpgsspain@igenomix.com) per valutare le possibilità e la strategia del PGT-SR. Le possibilità dopo la valutazione possono essere:
 - PGT-SR diretto, senza la necessità di uno studio preliminare.
 - Necessità di uno studio preliminare (pre-PGT-SR) a scopo valutativo. In questo caso, sarà necessario ricevere un campione di sangue dell'individuo con cariotipo alterato in una provetta EDTA, per analizzarlo tramite tecnologia NGS e valutare se è possibile individuare eventuali sbilanciamenti negli embrioni. (La provetta EDTA non è inclusa in questo Kit).
- **Smart PGT-A (Test genetico preimpianto per aneuploidie)**
- **Smart PGT-A/SR Plus (Test genetico preimpianto per aneuploidie, riarrangiamenti cromosomici strutturali, ploidia e controllo della qualità dell'embrione)**
Smart PGT-A/SR Plus è un test opzionale che aggiunge la valutazione della ploidia e il controllo della qualità dell'embrione. La triploidia e l'aploidia sono le anomalie relative alla ploidia più comuni e sono incompatibili con una crescita e uno sviluppo normali. Il controllo della qualità dell'embrione comprende l'analisi di correlazione genetica tra embrioni fratelli e l'analisi di contaminazione da DNA non embrionale.
- **PGT-M (Test genetico preimpianto per malattie monogeniche)**
È necessario richiedere una fattibilità tecnica preliminare a Igenomix (pgdmonogenicspain@igenomix.com) per valutare le possibilità e la strategia del PGT-M.

Il test PGT-M necessita sempre di uno studio preliminare (pre PGT-M), in cui sono analizzati i campioni di sangue/saliva/cellule buccali dei familiari coinvolti nell'analisi. Igenomix fornirà un kit indipendente per il prelievo di questi campioni.



Fase 1: Mettersi in contatto con noi

È possibile chiamarci al **+34 963 905 310** o scriverci via email.

Smart PGT-A, PGT-SR e Smart PGT-A/SR Plus: supportspain@igenomix.com, labpgsspain@igenomix.com o embryology@igenomix.com

PGT-M: supportspain@igenomix.com, pgdmonogenicspain@igenomix.com o embryology@igenomix.com

- Per chiedere informazioni sul test
- Per richiedere il test
- Per domande sui referti
- Per richiedere la documentazione in formato cartaceo o in altre lingue, gratuitamente
- Prima di iniziare un ciclo di PGT è importante comprendere i requisiti di documentazione. Ciò dipenderà dal tipo di servizio richiesto:
 - Se non sono richiesti servizi di biopsia e tubing:
 - Per i trasferimenti di PGT a fresco: compilare la documentazione (modulo di richiesta) prima della biopsia embrionale e inviarla via e-mail a labsamples@igenomix.com, labpgsspain@igenomix.com e embryology@igenomix.com.
 - Per i transfer PGT differiti: non è necessario inviare il modulo di richiesta via e-mail prima della biopsia.
 - Se è richiesto il servizio di biopsia: inviare il modulo di richiesta compilato preferibilmente quando è previsto l'inizio della stimolazione ovarica controllata della paziente.
Se non si dispone del modulo di richiesta, inviare il prima possibile le seguenti informazioni a embryology@igenomix.com (almeno 1 settimana prima della biopsia):
 - Codice identificativo unico della paziente/numero della cartella clinica + iniziali della paziente.
 - Data di inizio della stimolazione ovarica.
 - Possibile data della puntura ovarica.

Includere tutta la documentazione (modulo di richiesta + modulo della biopsia) nella scatola fornita da Igenomix.

ISTRUZIONI PER L'USO



Fase 2: Ricezione del KIT

Controllare il contenuto del kit PGT (MOLTO IMPORTANTE: Maneggiare il contenuto con i guanti per evitare contaminazioni) e verificare la presenza di:

- 1 scatola con i componenti del kit:
 - 3 provette con soluzione di lavaggio e tubing (washing/loading).
 - 20 provette PCR.

Il kit può essere ricevuto a temperatura ambiente; una volta ricevuto, controllare la data di scadenza delle provette e conservare le soluzioni in frigorifero a 4 °C fino al momento dell'uso.

Nota: Se la data di scadenza è trascorsa o la confezione è danneggiata, smaltire il kit ai sensi della legislazione locale e contattare Igenomix per ricevere un nuovo kit.



Fase 3: Prelievo del campione

Avvertenze/Precauzioni:

Il laboratorio dovrà ricontattare il Cliente nei seguenti casi:

- Documentazione (modulo di richiesta e consenso informato) non compilata correttamente.
- Campi obbligatori, contrassegnati dall'asterisco (*) sui moduli, non compilati.
- Assenza della firma del paziente e del medico richiedente sul modulo di richiesta e sul consenso informato.
- Assenza del cariotipo nel modulo di richiesta, nei casi indicati per il PGT-SR.
- Errata identificazione dei campioni.
- Utilizzare esclusivamente la soluzione di lavaggio e tubing fornita nel kit di Igenomix. L'uso di altre soluzioni potrebbe alterare le prestazioni e i risultati del test.

La scatola termica che correde il kit deve essere utilizzata unicamente per il trasporto dei campioni.

Assicurarsi di riportare l'identità della persona che effettua il prelievo del campione.

PGT-SR: Ammette solo la biopsia di blastocisti al 5°/6°/7° giorno di sviluppo e il transfer differito: biopsia di 4-8 cellule del trofotoderma. È possibile realizzare una biopsia al 3° giorno e transfer a fresco solo in caso di PGT-SR per traslocazioni robertsoniane.

Smart PGT-A: Ammette sia la biopsia di una singola cellula al 3° giorno* di sviluppo che la biopsia del trofotoderma.

*Verificare le possibilità con il proprio laboratorio di riferimento Igenomix.

Smart PGT-A/SR Plus: Ammette solo la biopsia di blastocisti al 5°/6°/7° giorno di sviluppo e il transfer differito.

PGT-M: Ammette la biopsia di blastocisti al 5°/6°/7° giorno di sviluppo: biopsia di 4-8 cellule del trofotoderma. Consultare la possibilità di effettuare una biopsia il 3° giorno.

Si veda il protocollo di tubing nell'Allegato 1.

Nota: Igenomix raccomanda di rivolgersi a società autorizzate per la gestione dei rifiuti sanitari, sempre nel rispetto delle norme di legge vigenti nel Paese/regione in cui i rifiuti sono stati prodotti, sia per le rimanenze e le soluzioni inutilizzabili (resti liquidi di soluzioni di lavaggio e tubing), sia per i recipienti vuoti (contenitori di soluzioni di lavaggio e tubing).



Fase 4: Trasporto del campione

Controllare il contenuto del kit PGT e assicurarsi che siano presenti:

- 1 scatola termica
- 1 busta imbottita
- 2-3 siberini rossi (conservare a -20 °C per almeno 24 ore prima della spedizione del campione)
- 1 cool rack all'interno della busta (conservare a -20 °C). Non rimuovere il rack dalla busta fino al suo utilizzo.

ISTRUZIONI PER L'USO

Per garantire che la stabilità del campione non venga compromessa, il che potrebbe portare alla non validità del test, si raccomanda di seguire le seguenti istruzioni:

1. Identificare i campioni come indicato nel protocollo di tubing (Allegato 1).
2. Mettere il rack refrigerato con tutti i campioni nel congelatore (-20 °C) per almeno un'ora prima della spedizione.
3. Se i campioni devono essere spediti in un giorno diverso da quello della biopsia, si raccomanda di mantenere il rack con i campioni a -20 °C fino al momento della spedizione.
4. Inserire il rack precedentemente congelato con i campioni nella busta bianca imbottita fornita da Igenomix. Posizionare il rack congelato tra i siberini all'interno della scatola termica nello stesso modo in cui Igenomix lo ha spedito. Per mantenere il rack congelato durante il trasporto, è molto importante utilizzare i siberini forniti da Igenomix e non utilizzarne di altro tipo.
5. Piegare e inserire il consenso informato e il modulo di richiesta, precedentemente firmati e compilati, nella confezione di spedizione.



Fase 5: Ritiro del campione

Per il ritiro del campione in Spagna, UE ed altri paesi:

 **+34 965 023 460**  **pickup@igenomix.com**

Per garantire che la stabilità del campione non venga compromessa, il che potrebbe portare alla non validità del test, si raccomanda di seguire le seguenti istruzioni:

Ritiri in Spagna:

- Da lunedì a venerdì
- Per coordinare il ritiro dei campioni, è necessario un preavviso di almeno 3 ore.

Ritiri nell'UE e in altri paesi:

- Consultare la disponibilità presso il servizio clienti.
- Per coordinare il ritiro dei campioni, è necessario un preavviso di almeno 24 ore.

Per il ritiro del campione in Italia:

 **+39 0424472449**  **supportitalia@igenomix.com**

Ritiri in Italia:

- Da lunedì a venerdì.
- Per coordinare il ritiro dei campioni, è necessario un preavviso di almeno 24 ore.

Festivi: I giorni indicati precedentemente possono subire modifiche a causa dei giorni festivi. In questi casi, il nostro servizio clienti le comunicherà i giorni disponibili prima dell'eventuale ritiro.

Si raccomanda di inviare i campioni al più presto per garantirne la qualità.



Fase 6: Risultati del test

Igenomix invierà i risultati del test all'indirizzo e-mail indicato dalla clinica nel modulo di richiesta.

• Campioni PGT-A e PGT-SR con transfer differito:

I risultati del test saranno disponibili entro 7 giorni lavorativi dalla ricezione del campione presso Igenomix.

• Campioni PGT-A e PGT-SR (solo traslocazioni robertsoniane) con transfer a fresco:

I risultati del test saranno disponibili nella mattinata del giorno successivo al ricevimento dei campioni presso Igenomix.

• Campioni PGT-M:

I risultati del test saranno disponibili entro 10 giorni lavorativi dalla ricezione del campione presso Igenomix.

• Campioni Smart PGT-A Plus e PGT-SR Plus:

Il risultato del test sarà disponibile in tempi variabili a seconda del tipo di studio richiesto.

ISTRUZIONI PER L'USO



Informazioni aggiuntive

Per incidenti gravi:

Qualsiasi incidente grave che possa verificarsi in relazione ai materiali inclusi nel kit fornito deve essere segnalato a **vigilance@igenomix.com** e all'autorità sanitaria competente dello Stato membro in cui si trova l'utente e/o il paziente.

Legenda dei simboli:



Produttore



Data di scadenza



Conformità europea



Dispositivo medico-diagnostico *in vitro*



Tenere lontano dall'esposizione alla luce solare



Limite di temperatura



Non utilizzare se la confezione è danneggiata



Contiene materiale biologico di origine umana



Non riutilizzare



Tenere al riparo dall'umidità



Consultare le istruzioni per l'uso.



Allegato 1: PROTOCOLLO DI TUBING

Per PGT (trofoectoderma)

Attrezzature, strumenti e reagenti necessari (per PGT-A, PGT-SR e PGT-M):

- Cappa a flusso laminare (preferibilmente con luce UV).
- Stereomicroscopio per la manipolazione delle cellule
- Pipetta automatica da 1µL-10µL. Si raccomanda di riservarne l'uso esclusivamente per PGT al fine di evitare contaminazioni. In caso di uso multiplo, sterilizzare accuratamente con un prodotto decontaminante.
- Puntali sterili con filtro, se possibile privi di DNAsi/RNAsi.
- Micropipette Stripper o Flexipet, qualsiasi dispositivo per tubing manuale con misuratore volumetrico.
- Capillari in policarbonato di 100-150 µm di diametro [per esempio: VITROMED Denuding Pipettes - V-DEN o RI (Origio) - EZ-Tip®].
- Piastre Petri da 60 mm o, in alternativa, piastre per ICSI.
- Provette PCR da 0,2 mL – fornite da IGENOMIX.
- Cool rack - fornito da IGENOMIX.
- Olio minerale FREDDO
- Decontaminante DNA AWAY™ Surface (sostituibile con: Oosafe, Fermacidal, sapone 7X, ecc.).
- Soluzione di lavaggio e tubing (soluzione Washing/Loading) - fornita da IGENOMIX.

Metodologia:

Note importanti per evitare contaminazioni:

- Si raccomanda di eseguire il protocollo di tubing in un laboratorio separato dal locale della FIV, ma vicino ad esso e con un sistema di ventilazione indipendente. In questo caso, tutti i processi di pulizia dovrebbero essere effettuati impiegando etanolo al 70% come decontaminante.
- In caso ciò non fosse possibile, per la pulizia del materiale andrebbero utilizzati decontaminanti non embriotossici.
- L'embriologo deve indossare dispositivi di protezione individuale (maschera, guanti, copricapo e copribarba). Lasciare esposta la minor quantità di pelle possibile nella cappa per evitare la contaminazione del DNA.
- Usare sempre guanti disinfettati o sterili per la manipolazione dei materiali e dei campioni.
- Si raccomanda di utilizzare attrezzature e materiali esclusivamente per il PGT.
- I materiali di consumo devono essere appena aperti o di uso esclusivo riservato al PGT (maneggiati sempre con i guanti).
- Si raccomanda di manipolare i campioni in stanze pulite, meglio se separate da altre attività.
- Evitare di manipolare il DNA in questa stanza e nel frigorifero/congelatore dove sono conservati i tamponi (soluzioni di lavaggio).
- Pulire accuratamente tutto il materiale con un decontaminante (indossando sempre con i guanti) prestando particolare attenzione ad evitare la contaminazione del DNA.

Preparazione

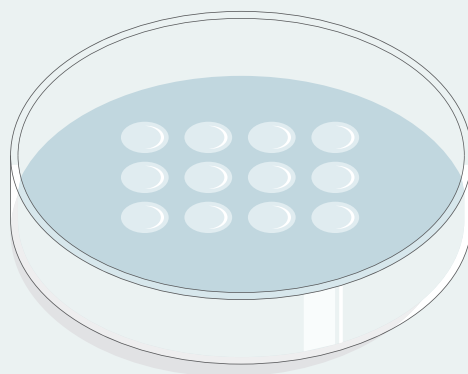
Prima di iniziare il protocollo, si raccomanda di preparare il materiale in anticipo, per poter eseguire il tubing subito dopo la biopsia dell'embrione.

- Tutto il materiale introdotto nell'area della cappa per il tubing, così come la superficie della cappa stessa e della lente d'ingrandimento, devono essere puliti (sempre indossando dei guanti) con il decontaminante scelto, preferibilmente DNA AWAY™, o in alternativa Oosafe/Fermacidal.
- Tutti i materiali di consumo devono essere appena aperti o di uso esclusivo riservato al PGT e maneggiati sempre con i guanti.
- Se si dispone di luce UV, tutto il materiale (NON GLI EMBRIONI) deve essere esposto alla luce UV per 5 minuti prima di iniziare il protocollo.
- Preparare le provette PCR in base al numero di embrioni da sottoporre a biopsia riempiendole con 2,5 µL di soluzione Washing/Loading fornita da Igenomix (si consiglia di preparare provette in più).
- Centrifugare le provette PCR con la soluzione Washing/Loading, verificare che non rimangano bolle nella soluzione e che il volume della soluzione rimanga sul fondo della provetta. Se non è disponibile una centrifuga, agitare vigorosamente le provette a mano.
- Se non è possibile eseguire immediatamente il tubing, collocare le provette PCR in un rack refrigerato e conservarle in congelatore (-20°C) fino alla procedura di tubing. Se il tubing viene eseguito immediatamente, collocare le provette nella cappa a temperatura ambiente.
- NON etichettare le provette fino al completamento della biopsia e prima di procedere al tubing.

Allegato 1: PROTOCOLLO DI TUBING

Per PGT (blastomero o trofoectoferra)

- Piastra di lavaggio: preparare una piastra Petri da 60 mm (o una piastra ICSI) secondo lo schema illustrato di seguito. È necessario preparare una fila di 4 gocce per ogni campione biopsiato. Ogni goccia deve contenere 10µL di soluzione di lavaggio Washing/Loading fornita da Igenomix, e coprire con olio minerale freddo. Vengono realizzate al massimo 6 file per piastra (corrispondenti a 6 campioni).



PIASTRA DI LAVAGGIO

Prelievo del campione:

1. Il protocollo viene eseguito a temperatura ambiente e la superficie della cappa deve essere fredda.
2. Dopo la biopsia e immediatamente prima del tubing, le provette PCR da 0,2 ml devono essere adeguatamente contrassegnate con le iniziali della paziente e il numero dell'embrione sul tappo, ID di coppia e numero dell'embrione in lettere sul corpo della provetta.
3. Se le provette PCR da 0,2 ml sono già state preparate e conservate nel congelatore, estrarle e posizionarle all'interno della cappa per farle scongelare prima del tubing. Assicurarsi che la soluzione di caricamento sia a temperatura ambiente e priva di bolle.
4. Oltre alla piastra di lavaggio, preparare una piastra superiore al momento del tubing, contenente una goccia abbondante (~100µL) di soluzione di lavaggio e non coperta di olio. Questa goccia verrà utilizzata per pulire il capillare ogni volta che il campione viene depositato da una goccia di lavaggio all'altra, quindi prepararne 1 per ogni 1-2 embrioni biopsiati.
5. Utilizzare un nuovo capillare per ogni singola cellula (biopsia del 3° giorno) o per ogni biopsia del trofoectoderma.
6. Ogni campione di blastomero o trofoectoderma deve essere risciacquato nelle prime 3 gocce di ogni fila della piastra di lavaggio. Caricare il capillare con soluzione di lavaggio pulita dalla goccia più grande ogni volta che si aspira il campione. Depositare il campione nella goccia di lavaggio da 10µL e scartare la soluzione rimanente nel capillare prima di ricaricarlo con soluzione pulita.
7. Una volta raggiunta la terza goccia, ripetere il processo di caricamento della soluzione pulita nel capillare, aspirare il campione e introdurlo nella provetta PCR, caricandolo sotto lo stereomicroscopio nei 2,5 µL depositati sul fondo della provetta. L'embriologo deve osservare con la stereomicroscopia come la biopsia entra nella provetta. Questo passaggio è un punto chiave della procedura e la biopsia deve essere rilasciata nella provetta con il minimo volume di soluzione di lavaggio (massimo 1,5µL).
8. La quarta goccia di ogni fila è riservata per controllare il capillare nel caso in cui non si sia visto uscire il campione nella provetta PCR. Se la biopsia viene rilevata nella quarta goccia, scartare la provetta PCR in cui si supponeva fosse stata introdotta la biopsia e caricare il campione in una nuova provetta PCR rietichettata.
9. Man mano che i campioni vengono raccolti, vanno riposti nel rack freddo e viene compilata la scheda della biopsia seguendo le stesse modalità con cui i campioni sono stati identificati nelle provette PCR. Questa scheda verrà inviata a Igenomix insieme ai campioni.
10. Per il PGT-M è richiesto un bianco per embrione per le biopsie del 3° giorno. Per le biopsie del trofoectoderma è sufficiente un bianco per caso e per giorno.
11. Per il PGT-A è consigliabile inviare un bianco per caso.
12. Preparazione del bianco: dopo aver rilasciato la biopsia nella provetta PCR e aver verificato che non sia rimasta nel capillare, aspirare con lo stesso capillare una piccola quantità di mezzo di lavaggio dall'ultima goccia in cui è stata depositata la biopsia e introdurla in una nuova provetta.
13. Chiudere bene le provette e riporle nel rack.
14. Mettere il rack refrigerato con tutti i campioni nel congelatore (-20 °C) per almeno un'ora prima della spedizione. Se i campioni devono essere spediti in un giorno diverso da quello della biopsia, si raccomanda di mantenere il rack con i campioni a -20 °C fino al momento della spedizione.
15. Per preparare la spedizione, riporre il rack nella busta imbottita e inserirlo nella scatola termica tra i 2 siberini, così come è stato ricevuto. Non dimenticare di inserire il modulo PGT nella scatola.

Nota: Igenomix raccomanda di rivolgersi a società autorizzate per la gestione dei rifiuti sanitari, sempre nel rispetto delle norme di legge vigenti nel Paese/ regione in cui i rifiuti sono stati prodotti, sia per le rimanenze e le soluzioni inutilizzabili (resti liquidi di soluzioni di lavaggio e caricamento), sia per i recipienti vuoti (contenitori di soluzioni di lavaggio e caricamento).

Per ulteriori informazioni, si prega di contattare embryology@igenomix.com.

CONTROL OF CHANGES

[illegible]