




Distribuito in ITALIA da
Li StarFish S.r.l.
 Via Cavour, 35
 20063 Cernusco S/N (MI)
 telefono 02-92150794
 fax 02-92157285
 info@listarfish.it
 www.listarfish.it

CryoSure-DMSO Marchio 0482.

Dimethyl Sulfoxide Cryo-Preservante in contenitori multidose, per la criopreservazione di cellule staminali ematopoietiche, per proteggere le cellule dai danni del congelamento, durante il ciclo di congelamento/scongelo.

CryoSure DMSO è un prodotto di qualità superiore "USP grade". Completo dei certificati di analisi, secondo la farmacopea europea (Ph. Eur), americana (USP-NF) e quella giapponese (JP).
 Ulteriori test addizionali vengono effettuati per i micoplasmi.
 Controlli di stabilità del prodotto sono svolti con regolarità.
 Il confezionamento, così come la produzione, sono realizzati in condizioni GMP.

| SCHEDA TECNICA | | |
|---|--------------------------------------|--|
| STERILE in accordo con le direttive EP/USP | | |
| Esente da Pirogeni in accordo con le direttive EP | | |
| Esente da Endotossine in accordo con le direttive EP/USP | | |
| Esente da Mycoplasma in accordo con le direttive EP | | |
| Contenuto: >99,9% di DMSO USP grade <0,1% H2O | | |
| Peso specifico: 1,095-1,101 g/cm ³ | | |
| Punto di congelamento: 18,3°C | | MW: 78,13 Da |
| Categoria: Dispositivo medico CE 0482 | | |
| Descrizione e codice: | Registrazione repertorio SSN: | Classificazione CND: |
| 10 ml Multidose (confezione da 10 pz.) Codice WAK-DMSO-10 | Numero attribuito 377091 | B99 – dispositivo per emotrasfusione ed ematologia |
| 50 ml Multidose (confezione da 6 pz.) Codice WAK-DMSO-50 | Numero attribuito 1555782 | B99 – dispositivo per emotrasfusione ed ematologia |
| 70 ml Multidose (confezione da 6 pz.) Codice WAK-DMSO-70 | Numero attribuito 377083 | B99 – dispositivo per emotrasfusione ed ematologia |
|  | | <p>Ogni confezione di CryoSure DMSO viene sempre accompagnata dal certificato di analisi lotto specifico.</p> <p>ATTENZIONE:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Conservare a 20°C/30°C. • Proteggere dalla luce diretta. • Combustibile ad alte temperature. • Non autoclavare. Non iniettare. • Non utilizzare se la soluzione non è limpida. |

Cryo-SURE DMSO

Crioprotettivo per la criopreservazione di cellule staminali ematopoietiche per proteggere le cellule dai danni del congelamento, durante il ciclo di congelamento/scongelo

Sterile in acc con direttive EP/USP

Apirogeno in acc. con direttive EP

Esente da endotossine in acc con direttive EP/USP

Esente da Micoplasma in acc. con direttive EP

Contenuto: >99,9% di DMSO USP grade , <0,1% H₂O

Peso specifico: 1,095-1,101 g/cm³

Punto di congelamento: 18,3°C


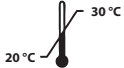







MW: 78,13 Da



ATTENZIONE:

Combustibile ad elevate temperature
Non utilizzare se la soluzione non è limpida

Non autoclavare
Non iniettabile

| | | | | | |
|---|---|---|--|---|---|
|  | Sterilizzato per filtrazione sterile |  | Conservare tra 20°C e 30°C |  | Utilizzare entro: vedere l'etichetta sul prodotto |
|  | Non sterilizzare nuovamente |  | Non esporre alla luce diretta del sole |  | Numero di lotto: vedere l'etichetta sul prodotto |
|  | Non utilizzare se l'involucro non è integro |  | Seguire le istruzioni d'uso |  | WAK-DMSO-10 (10x10ml) WAK-DMSO-70 (6x70ml) |

Istruzioni per l'uso del CryoSure-DMSO

Introduzione:

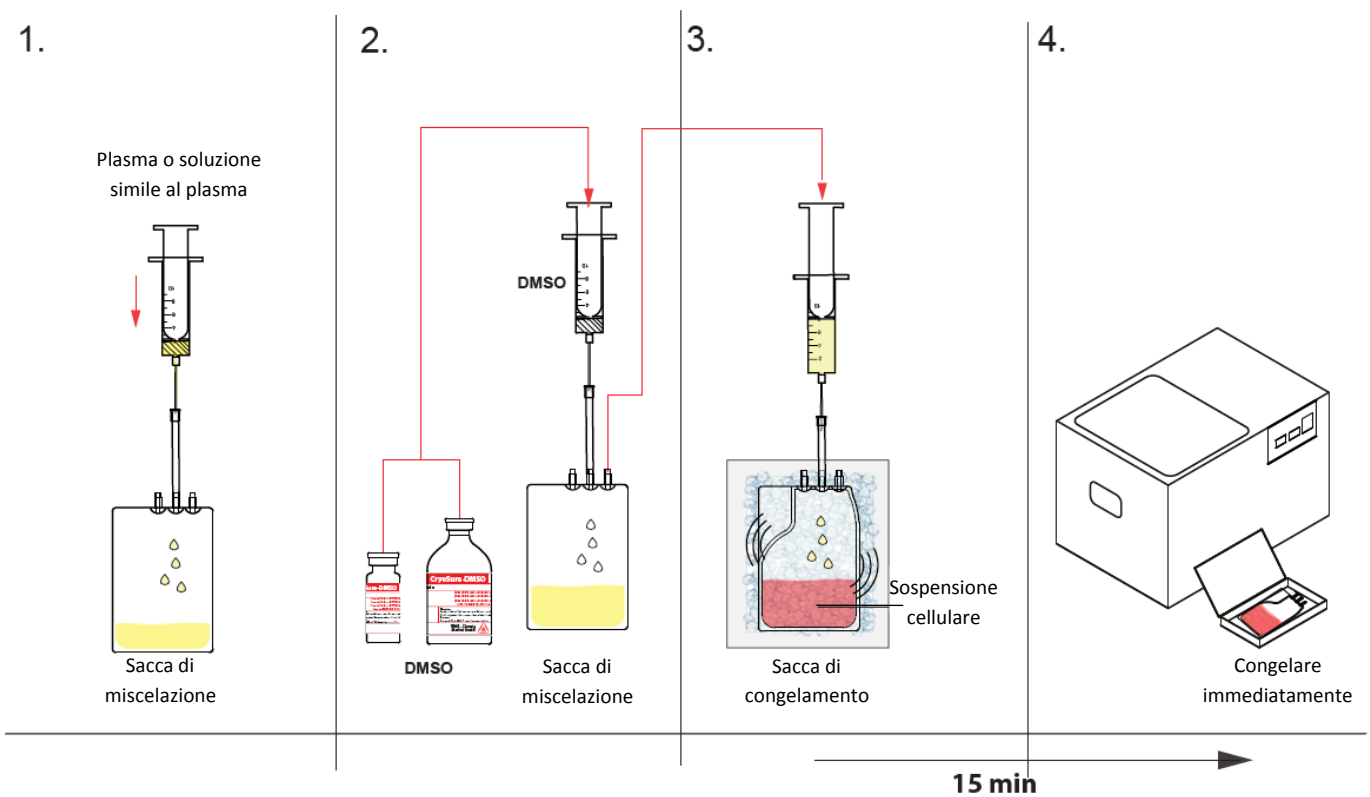
Il DMSO (dimetilsolfossido) è un crioprotettore che penetra la parete cellulare e prende il suo effetto crioprotettore all'interno della cellula. Riduce lo stress osmotico sulle cellule durante il congelamento e scongelamento (1, 2, 3, 4, 5) e contrasta lo shock osmotico (6). Il DMSO protegge le cellule anche riducendo la disidratazione e il restringimento cellulare durante il processo di congelamento (7, 4). Dopo lo scongelamento, il DMSO deve essere rimosso dalla sospensione di cellule staminali mediante lavaggio per centrifugazione.

La concentrazione finale di DMSO nella sospensione di cellule staminali, applicabile per congelamento, è specificata in letteratura tra il 5% e il 10% del volume finale.

Prima del congelamento e dopo lo scongelamento, il DMSO è potenzialmente citotossico. La citotossicità è dipendente dalla concentrazione di DMSO, dal tempo di esposizione e dalla temperatura della sospensione di cellule staminali durante il tempo di esposizione al DMSO (8, 10, 11, 12, 13, 14, 15). Pertanto, sia prima del congelamento che dopo lo scongelamento, la sospensione di cellule staminali deve essere mantenuta a 2°C, quindi, sia mentre il CryoSure-DMSO viene aggiunto alla sospensione di cellule staminali prima del congelamento, che prima della rimozione del DMSO dalla sospensione di cellule staminali dopo lo scongelamento.

Subito dopo l'aggiunta di CryoSure-DMSO il processo di congelamento deve essere avviato. Analogamente il CryoSure-DMSO deve essere lavato via della sospensione di cellule staminali immediatamente dopo lo scongelamento. In caso di adeguato raffreddamento della sospensione di cellule staminali durante l'esposizione del DMSO nello stato scongelato, nessun rilevante effetto negativo sulle cellule è stato osservato a concentrazioni finali di volume di DMSO tra il 5 e il 10% (14, 15, 16, 17) . Poiché il DMSO è un forte solvente aprotico, particolare attenzione deve essere posta all'utilizzo di materiali DMSO-compatibili, per il prelievo del DMSO dal suo flaconcino e durante la dispensazione del DMSO nella sospensione di destinazione, e alla riduzione al minimo del tempo di contatto del DMSO con tali materiali. Tutti i processi relativi all'applicazione e all'eliminazione di CryoSure-DMSO devono essere convalidati dall'utente.

I Aggiunta del CryoSure DMSO alla sospensione di cellule staminali



Il CryoSure DMSO viene aggiunto alla sospensione di cellule staminali ematopoietiche in forma di soluzione crioprotettiva all'ultimo passaggio prima di iniziare il processo di congelamento della sospensione stessa

1. Calcolo della composizione della soluzione crioprotettiva e fornitura di diluente

Una parte di CryoSure-DMSO viene aggiunta ad almeno una parte di plasma autologo (30) o di una soluzione plasma-simile. Diverse soluzioni plasma-simili sono specificate in letteratura, come ad esempio soluzioni acquose di albumina umana (18, 21, 23, 29, 31, 35, 36), amido idrossietilico (18, 23, 24, 29, 31, 32, 35, 36, 39, 40), destrano (37) e altri (41).

La selezione e la validazione di tale soluzione è responsabilità dell'utilizzatore.

L'effetto crioprotettivo del CryoSure-DMSO dipende dalla concentrazione di DMSO nella sospensione cellulare dopo l'aggiunta della soluzione crioprotettiva. In letteratura, la concentrazione applicabile di DMSO viene specificata tra il 5 e il 10% del volume finale.

2. Prelievo del CryoSure-DMSO dal suo flaconcino e preparazione della soluzione crioprotettiva

La quantità necessaria di plasma autologo, o di una soluzione plasma-simile, viene posta in un adeguato recipiente di miscelazione. Questo recipiente di miscelazione viene poi posizionato su un letto di ghiaccio.

La quantità applicabile di CryoSure-DMSO deve essere volumetricamente prelevata dal flaconcino e aggiunta al plasma, o soluzione plasma-simile, nel recipiente di miscelazione. Durante la miscelazione del CryoSure-DMSO con il plasma autologo o con una soluzione plasma-simile, il calore termico della soluzione viene rilasciato, e viene dissipato attraverso il letto di ghiaccio. Dopo che l'aggiunta di CryoSure-DMSO è completata, la soluzione crioprotettiva risultante deve essere raffreddata a 2°C.

3. Aggiunta della soluzione crioprotettiva alla sospensione di cellule staminali ematopoietiche

Prima dell'aggiunta della soluzione crioprotettiva, la sospensione di cellule staminali viene collocata su un letto di ghiaccio e raffreddata a 2°C. Successivamente la soluzione crioprotettiva raffreddata a 2°C, viene aggiunta volumetricamente, ad una velocità costante in un periodo di 15 minuti, alla sospensione di cellule staminali, fino a che il volume finale designato viene raggiunto. E' preferibile l'utilizzo di una pompa a siringa calibrata per l'aggiunta della soluzione crioprotettiva. L'aggiunta decelerata del DMSO prevede la tolleranza osmotica della iperosmolarità DMSO e le cellule in sospensione di destinazione.

Durante il processo di aggiunta la sospensione di destinazione deve essere continuamente e costantemente miscelata per assicurare un costante dissolvimento del DMSO.

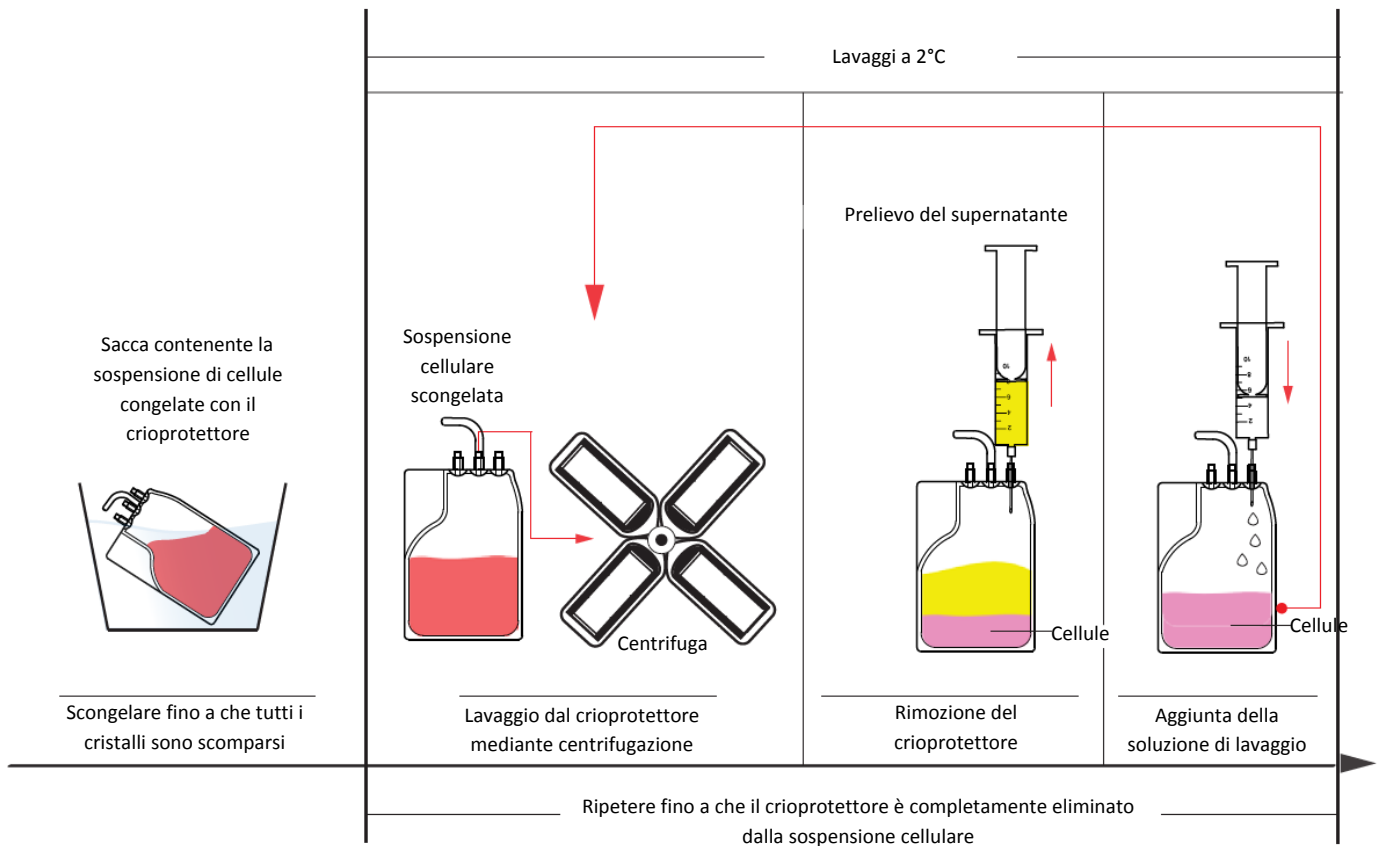
4. Inizio del processo di congelamento

Immediatamente dopo l'aggiunta della quantità totale di soluzione crioprotettiva designata alla sospensione, il processo di congelamento deve essere avviato. Fino all'inizio del congelamento, la temperatura delle cellule staminali, deve essere mantenuta a 2°C.

Le procedure standard di congelamento devono essere applicate come specificato in letteratura. Un tasso di abbassamento della temperatura di 1°C/minuto fino al raggiungimento della temperatura finale di congelamento, è stata descritto come un tasso applicabile alla congelazione per le cellule staminali ematopoietiche(15).

II

Prelievo del Criopreservante dalla sospensione di cellule staminali dopo lo scongelamento



Prelievo del crioprotettore dalla sospensione di cellule staminali dopo lo scongelamento

Subito dopo aver completato il processo di scongelamento della soluzione crioprotettiva, le cellule staminali devono essere lavate. Il processo di lavaggio viene eseguito in diverse fasi costituite da centrifugazione con prelievo del liquido surnatante e risospensione delle cellule con una soluzione di lavaggio appropriata. Durante il processo di lavaggio, fino alla completa eliminazione del crioprotettore dalla sospensione di cellule staminali, la sospensione deve essere mantenuta fredda a 2°C. Di conseguenza, il processo di lavaggio deve essere effettuato per mezzo di una centrifuga refrigerata. La convalida del processo di eliminazione è responsabilità dell'utilizzatore. Per eseguire il processo di lavaggio in un sistema chiuso, sono disponibili diversi metodi (41-47).

Letteratura

- 1) Farrant 1969, Nature, 11755
- 2) Mazur 1970, Science 168, 939-949
- 3) Leibo 1977, Ciba Foundation Symposium No.52, Amsterdam S. 69-96
- 4) Merryman et al 1977 Cryobiology 14, 287-302).
- 5) Whittingham 1981, Gustav-Fischer Verlag, Stuttgart, S. 21-22
- 6) Lovelock 1953, Biochim. Biophys. Acta 10, 414-426
- 7) Merryman 1974, An. Rev. Of Biophys. And Bioengineering, Band 3 Paolo Alto, S.341-363
- 8) Goris A: [Test of the toxicity of dimethyl sulfoxide (D.M.S.O.) on carrot tissue cultured in vitro], Ann Pharm Fr. 1966 Dec;24(12):781-4
- 9) Basch, H., and Gadebusch, H.H. In vitro antimicrobial activity of dimethyl sulfoxide. Appl. Microbiol. 16: 1953-1954 (1968).
- 10) Chang CY, Simon E: 'The effect of dimethyl sulfoxide (DMSO) on cellular systems,' Proc Soc Exp Biol Med. 1968 May;128(1):60-6
- 11) Da Violante G, Zerrouk N, Richard I, Provot G, Chaumeil JC, Arnaud P: Evaluation of the cytotoxicity effect of dimethyl sulfoxide (DMSO) on Caco2/TC7 colon tumor cell cultures; Bilo. Pharm. Bull. 25(12) 1600-1603 (2002)
- 12) Fahy GM: 'The relevance of cryoprotectant "toxicity" to cryobiology,' Cryobiology 1986 Feb;23(1):1-13
- 13) Gurtuvenko AA, Anwar J: 'Modulating the structure and properties of cell membranes: the molecular mechanism of action of dimethyl sulfoxide,' J Phys Chem B. 2007 Sep 6;111(35):10453-60
- 14) Yang H, Zhao H, Acker JP, Liu JZ, Akabutu J, McGann LE: 'Effect of dimethyl sulfoxide on post-thaw viability assessment of CD45+ and CD34+ cells of umbilical cord blood and mobilized peripheral blood; Cryobiology 2005 Oct;51(2):165-75
- 15) Hunt CJ, Armitage SE, Pegg DE: 'Cryopreservation of umbilical cord blood: 2. Tolerance of CD34(+) cells to multimolar dimethyl sulphoxide and the effect of cooling rate on recovery after freezing and thawing,' Cryobiology. 2003 Feb;46(1):76-87
- 16) Rowley S.D., Anderson G.L.: 'Effect of DMSO exposure without cryopreservation on hematopoietic progenitor cells: Bone Marrow Transplant.11, 389-393 (1993)
- 17) Branch, D.R.; Calderwood, S.; Cecutti, M.A.; Herst, R.; Solh, H. : "Hematopoietic progenitor cells are resistant to dimethyl sulfoxide toxicity". Transfusion 34, Nr.10 , 887-890 (1994)
- 18) Ayello, J.; Semidei-Pomales, M.; Preti, R.; Hersedorffer, C.; Reiss, R.F. : "Effects of long-term storage at -90" o"C of bone marrow and PBPC on cell recovery, viability, and clonogenic potential". J. Hematother . 7 , 385-390 (1998)
- 19) Boonlayangoor, P.; Telischi, M.; Boonlayangoor, S.; Sinclair, T.F.; Millhouse, E.W. : "Cyropreservation of Human Granulocytes: Study of granulocyte function and ultrastructure". Blood 56 Nr.2 , 237-245 (1980)
- 20) Cavins, J.A.; Djerassi, I.; Roy, A.J.; Klein, E. : "Preservation of viable human granulocytes at low temperatures in dimethyl sulfoxide". Cryobiology 2 Nr.3 , 129-133 (1965)
- 21) Cilloni, D.; Garau, D.; Regazzi, E.; Sammarelli, G.; Savoldo, B.; Caramatti, C.; Mangoni, L.; Rizzoli, V.; Carlo-Stella, C. : "Primitive hematopoietic progenitors within mobilized blood are spared by uncontrolled rate freezing". Bone marrow transplant . 23 , 497-503 (1999)
- 22) Dankberg, F.L.; Persidsky, M.D.; Sprung, R.J.; Olson, L.S. : "Effect of serum on cryopreservation of granulocytes". Cryobiology 15 , 484-487 (1978)
- 23) Di Nicola, M.; Siena, S.; Bregni, M.; Belli, N.; Milanese, M.; Ruffini, P.A.; Malaffo, F.; Ravagnani, F. : "Benefits of blood cell transplant cryopreservation with oxypolygelantine (Gelifundol) plasma substitute". Bone marrow transplant . 18 , 619-623 (1996)
- 24) Donaldson, C.; Armitage, W.J.; Denning-Kendall, P.A.; Nicol, A.J.; Bradley, B.A.; Hows, J.M. : "Optimal cryopreservation of human umbilical cord blood". Bone marrow transplant . 18 , 725-731 (1996)
- 25) Egorin, M.J.; Rosen, D.M.; Sridhara, R.; Sensenbrenner, L.; Cottler-Fox, M. : "Plasma concentrations and pharmacokinetics of dimethylsulfoxide and Its metabolites in patients undergoing peripheral-blood stem-cell transplants". J. Clin. Oncol. 16 Nr.2 , 610-615 (1998)
- 26) Flidner, T.M.; Calvo, W.; Körbling, M.; Nothdurft, W.; Pflieger, H.; Ross, W. : "Collection, storage and transfusion of blood stem cells for the treatment of hemopoietic failure". Blood Cells 5 , 313-328 (1979)
- 27) Galmes, A.; Besalduch, J.; Bargay, J.; Matamoros, N.; Morey, M.; Novo, A.; Sampol, A. : "A simplified method for cryopreservation of hematopoietic stem cells with -80 " o"C mechanical freezer with dimethyl sulfoxide as the sole cryoprotectant". Leukem. Lymphom . 17 , 181-184 (1995)
- 28) Galmes, A.; Besalduch, J.; Bargay, J.; Novo, A.; Morey, M.; Guerra, J.M.; Duran, M.A. : "Long-term storage at -80 " o"C of hematopoietic progenitor cells with 5-percent dimethyl sulfoxide as the sole cryoprotectant". Transfusion 39 , 70-73 (1999)
- 29) Gorlin, J.M.D. : "Stem cell cryopreservation". J. Infus. Chemother . 6 Nr.1 , 23-27 (1996)
- 30) Hernandez-Navarro, F.; Ojeda, E.; Arrieta, R.; Rios-Rull, P.; Garcia-Bustos, J.; Quevedo, E.; Martin Hernandez, M.P.; Jimenez-Yuste, V.; Rodriguez-Luaces, M.; Lopez, R.M.; Garcia-Miguel, P.; Martinez, A.; Sastre, A.; Calero, F.; Gomez-Pastrana, F.; Martinez, B. : "Hematopoietic cell transplantation using plasma and DMSO without HES, with non-programmed freezing by immersion in a methanol bath: results in 213 cases". Bone marrow transplant . 21 , 511-517 (1998)
- 31) Jetter, S.J. : "Kryokonservierung von peripheren hämatopoetischen Progenitorzellen (PBPC). Variation der Kühlrate sowie des Verhältnisses der Kryoprotektive Dimethylsulfoxid (DMSO) und Hydroxyethylstärke (HES)", Dissertationsschrift, Universität Hamburg (1998)
- 32) Katayama, Y.; Yano, T.; Bessho, A.; Deguchi, S.; Sunami, K.; Mahmut, N.; Shinagawa, K.; Omoto, E.; Makino, S.; Miyamoto, T.; Mizuno, S.; Fukuda, T.; Eto, T.; Fujisaki, T.; Ohno, Y.; Inaba, S.; Niho, Y.; Harada, M. : "The effects of a simplified method for cryopreservation and thawing procedures on peripheral blood stem cells". Bone marrow transplant . 19 , 283-187 (1997)
- 33) Lovelock, J.E.; Bishop, M.W.H. : "Prevention of freezing damage to living cells by dimethyl sulphoxide". Nature 183 , 1394-1395 (1959)
- 34) Magrin, S.; Gentile, S.; Santoro, A.; Indovina, A.; Scime, R.; Hauser, D.; Felice, R.; Raiata, F.; Fabbiano, F.; Majolino, I. : "Collection, processing and storage of peripheral blood stem cells (PBSC)". Haematologica 76 , 55-57 (1991)
- 35) Makino, S.; Harada, M.; Akashi, K.; Taniguchi, S.; Shibuya, T.; Inaba, S.; Niho, Y. : "A simplified method for cryopreservation of peripheral blood stem cells at - 80 oC without rate-controlled freezing". Bone marrow transplant . 8 , 239-244 (1991)
- 36) Re, A.; Vijayaraghavan, K.; Basade, M.M.; He, S.; Gulati, S.C. : "Long-term cryopreservation: successful trilineage engraftment after autologous bone marrow transplantation with bone marrow cryopreserved for seven years". J. Hematother . 7 , 185-188 (1998)
- 37) Rubinstein, P.; Dobrila, L.; Rosenfield, R.E.; Adamson, J.W.; Migliaccio, G.; Migliaccio, A.R.; Taylor, P.E.; Stevens, C.E. : "Processing and cryopreservation of placental / umbilical cord blood for unrelated bone marrow reconstitution". Proc. Natl. Acad. Sci. USA 92 , 10119-10122 (1995)
- 38) Rubinstein, P.; Carrier, C.; Scaradavou, A.; Kurtzberg, J.; Adamson, J.; Migliaccio, A.R.; Berkowitz, R.L.; Cabbad, M.; Dobrila, N.L.; Taylor, P.E.; Rosenfield, R.E.; Stevens, C.E. : "Outcomes among 562 recipients of placental-blood transplants from unrelated donors". N. Engl. J. Med . 339 Nr.22 , 1565-1577 (1998)
- 39) Wang, S.Y.; Ho, C.K.; Chen, P.M.; Yung, C.H.; Chong, L.L.; Chen, L.Y. : "Comparison of stem cell viability of bone marrow cryopreserved by two different methods". Cryobiology 24 , 229-237 (1987)
- 40) Rowley SD, Feng Z, Chen L, Holmberg L, Heimfeld S, MacLeod B, Bensinger Wl. : 'A randomized phase III clinical trial of autologous blood stem cell transplantation comparing cryopreservation using dimethylsulfoxide vs dimethylsulfoxide with hydroxyethylstarch'. Bone Marrow Transplant. 31(11):1043-51 (2003)
- 41) Calmels B, Houzé P, Hengesse JC, Ducrot T, Malenfant C, Chabannon C.; Preclinical evaluation of an automated closed fluid management device: CytoMate, for washing out DMSO from hematopoietic stem cell grafts after thawing; Bone Marrow Transplant. 2003 May;31(9):823-8.
- 42) Rodriguez L, Velasco B, Garcia J, Martin-Henao GA.: 'Evaluation of an automated cell processing device to reduce the dimethyl sulfoxide from hematopoietic grafts after thawing,' Transfusion. 2005 Aug;45(8):1391-7.
- 43) Foïs E, Desmartin M, Benhamida S, Xavier F, Vanneaux V, Rea D, Femand JP, Arnulf B, Mounier N, Ertault M, Lotz JP, Galicier L, Raffoux E, Benbunan M, Marolleau JP, Larghero J.: 'Recovery, viability and clinical toxicity of thawed and washed hematopoietic progenitor cells: analysis of 952 autologous peripheral blood stem cell transplantations,' Bone Marrow Transplant. 2007 Nov;40(9):831-5. Epub 2007 Aug 27.
- 44) Laroche V, McKenna DH, Moroff G, Schierman T, Kadidlo D, McCullough J.: Cell loss and recovery in umbilical cord blood processing: a comparison of postthaw and postwash samples; Transfusion. 2005 Dec;45(12):1909-16.
- 45) Lemarie C, Calmels B, Malenfant C, Arneodo V, Blaise D, Viret F, Bouabdallah R, Ladaïque P, Viens P, Chabannon C.: 'Clinical experience with the delivery of thawed and washed autologous blood cells, with an automated closed fluid management device: CytoMate; Transfusion. 2005 May;45(5):737-42.
- 46) Nagamura-Inoue T, Shioya M, Sugo M, Cui Y, Takahashi A, Tomita S, Zheng Y, Takada K, Kodo H, Asano S, Takahashi TA.: 'Wash-out of DMSO does not improve the speed of engraftment of cord blood transplantation: follow-up of 46 adult patients with units shipped from a single cord blood bank; Transfusion. 2003 Sep;43(9):1285-95.
- 47) Perotti CG, Del Fante C, Viarengo G, Papa P, Rocchi L, Bergamaschi P, Bellotti L, Marchesi A, Salvaneschi L.: 'A new automated cell washer device for thawed cord blood units; Transfusion. 2004 Jun;44(6):900-6.