

## SpermFreeze™ SSP

Doc. ref. FP09 I11 R01-SSP A.4, Update: 15/02/2013  
SpermFreeze SSP is sterilized by sterile filtration



### INTRODUCTION

SpermFreeze SSP is a HEPES buffered freezing medium for use with human sperm<sup>1,2</sup>.

SpermFreeze SSP contains 0.4 % human serum albumin and 26.76% glycerol to protect the sperm from damage due to the freezing procedure<sup>3</sup>.

### SPERMFREEZE SSP AND SPERM PREPARATION

SpermFreeze SSP can be used in combination with Sil-Select Plus™<sup>4,5</sup>.

#### Before freezing

In case of very low sperm concentrations it is advisable to concentrate the sperm before freezing. This may increase sperm quality after thawing and will reduce the number of straws to be frozen.

#### After thawing

Use sperm preparation techniques after thawing to eliminate dead sperm cells and debris. Dilute the concentrated sperm in washing medium or any other medium you would normally use.

### SPECIFICATIONS AND QUALITY CONTROL

- pH: 7.20 - 7.60
- Sterility: sterile
- Endotoxin: < 0.25EU/ml
- Sperm survival test: ≥ 80% survival after 45 minute exposure of untreated semen to the test medium
- Not MEA tested
- A certificate of analysis is available upon request.

### METHOD

#### Freezing

1. Allow the semen to liquefy at room temperature for 30 minutes.
2. Mix 3 parts sperm with 1 part SpermFreeze SSP. Add the medium in drops while gently swirling.  
**Caution:** To avoid cold-shock, make sure SpermFreeze SSP is at room temperature.
3. Leave the mixture for 10 minutes at room temperature for equilibration.
4. Suck the sample/medium mixture into the freezing straws, leaving approximately 1.5cm of air at the end of the straw.
5. Seal the straws.
6. Dry off individually with a linen free cloth.
7. Shake to move the air-bubble to the centre of the straw.
8. Freeze vertically for 15 minutes, just above the level of the liquid nitrogen.
9. Store in liquid nitrogen.

#### Thawing

1. Remove as many straws as required from the liquid nitrogen.
2. Place the straws in tap water for 5 minutes.
3. Cut off the end of the straw, place the open end inside a container (e.g. a test tube) and tap the straw against the side of the container to allow complete evacuation of the mixture.
4. Dilute the concentrated sperm in a suitable insemination medium (at least 3 ml per 0.5 ml semen) and mix thoroughly
5. Centrifuge during 15 minutes at 300-350g
6. Resuspend pellet in a suitable insemination medium (e.g. FertiCult Flushing medium)

### MATERIAL INCLUDED IN THE KIT

#### SSP001

- 5x 1ml of SpermFreeze with 26.76% glycerol

### MATERIAL NOT INCLUDED IN THE KIT

- Plastic freezing straws

### STORAGE AND CONSERVATION

Store SpermFreeze SSP between 2-8°C upon receipt.

Keep from light.

### WARNINGS AND PRECAUTIONS

All human, organic material should be considered potentially infectious. Handle all specimens as if capable of transmitting HIV or hepatitis. Always wear protective clothing when handling specimens.

**Caution:** All blood products should be treated as potentially infectious. Source materials from which this product was derived was found negative when tested for antibodies to HIV, HBc, HCV, and HTLV I/II and non-reactive for HBsAg, HCV RNA, and HIV-1 RNA and syphilis. No known test method can offer assurance that products derived from human blood will not transmit infectious agents.

### REFERENCES

- 1 Mahadevan M, Trounson AD. Effect of cryoprotective media and dilution methods on the preservation of human spermatozoa. *Andrologia*, 1983; 15: 355-66.
- 2 Mahadevan M, Trounson AD, Leeton JF. Successful use of human semen cryobanking for in vitro fertilization, *Fertil Steril*, 1983; 15: 355-66.
- 3 Brotherton J. Cryopreservation of human semen. *Archives of Andrology*, 1990; 25: 181-95.
- 4 Kobayashi T, Kaneko S, Hara I, Park YJ, et al. Concentrating human sperm before cryopreservation. *Andrologia*, 1991; 23: 25-8.
- 5 Graczykowski JW, Siegel MS. Influence of sperm processing on the fertilizing capacity and recovery of motile sperm from thawed human semen. *Archives of Andrology*, 1991; 26: 155-61.

## SpermFreeze™ SSP

Réf. doc. FP09 I11-SSP R01 A.4, Edition: 15/02/2013  
SpermFreeze SSP a été stérilisé par filtration stérile



### INTRODUCTION

SpermFreeze SSP est un milieu tamponné HEPES pour congélation de sperme humain<sup>1,2</sup>.

SpermFreeze SSP contient 0,4% d'albumine de sérum humain et 26.76% de glycérol pour protéger le sperme contre les dégradations dues à la procédure de congélation<sup>3</sup>.

### SPERMFREEZE SSP ET GRADIENTS SIL-SELECT PLUS

SpermFreeze SSP peut être utilisé en combinaison avec Sil-Select Plus™ qui concentre le sperme avant congélation ou après décongélation<sup>4,5</sup>.

#### Avant congélation

Lorsque la concentration du sperme est très faible, il est recommandé de le concentrer avant de le congeler. Ceci peut améliorer la qualité du sperme après décongélation et réduire le nombre de paillette à congeler.

#### Après décongélation

Après décongélation du sperme, utilisez des gradients Sil-Select Plus pour éliminer les cellules de sperme mortes et les débris. Diluez le sperme concentré dans un milieu de rinçage ou dans tout autre milieu que vous utiliserez normalement.

### SPÉCIFICATIONS ET CONTROL DE QUALITÉ

- pH: 7.20 - 7.60
- Stérilité: sterile
- Endotoxine: < 0.25EU/ml
- Test de survie de spermatozoïdes: ≥ 80% après 45' d'exposition
- Non testés sur embryons de souris
- Certificate d'analyse disponible sur demande

### MÉTHODE

#### Congélation

1. Veillez à ce que le sperme puisse se liquéfier pendant 30 minutes à la température ambiante.
2. Mélangez 3 parties de sperme avec 1 parties de SpermFreeze SSP. Ajoutez le milieu goutte à goutte et faites tourbillonner le mélange avec précaution.  
**Attention:** pour éviter un choc thermique, veillez à ce que le milieu SpermFreeze SSP soit parvenu à température ambiante.
3. Faites reposer le mélange pendant 10 minutes à température ambiante pour en permettre l'équilibration.
4. Aspirez le mélange échantillon/milieu dans les paillettes en veillant à laisser une couche d'air de 1.5cm à l'extrémité de la paillette.
5. Scellez les paillettes.
6. Essorez chaque paillette individuellement à l'aide d'un chiffon ne contenant pas de lin.
7. Agitez de manière à ce que la bulle d'air se positionne au centre de la paillette.
8. Faites congeler pendant 15 minutes, en position verticale et juste au-dessus du niveau d'azote liquide.
9. Conservez dans de l'azote liquide.

#### Décongélation

1. Prélevez le nombre de paillettes nécessaire en les retirant de l'azote liquide.
2. Faites tremper les paillettes dans de l'eau courante pendant 5 minutes.
3. Coupez l'extrémité de la paillette, introduisez l'extrémité ouverte dans un récipient (dans un tube à essais par ex.) et agitez la paillette contre la paroi du tube pour évacuer l'intégralité du mélange.
4. Diluez le sperme concentré dans un milieu d'insemination approprié (au moins 3 ml pour 0,5 ml de liquide séminal) et bien mélanger.
5. Centrifuger pendant 15 minutes à 300-500 g.
6. Remettez le pellet en suspension dans un milieu d'insemination approprié (par ex. le milieu FertiCult Flushing).

### LA TROUSSE CONTIENT

#### SSP001

- 5x 1ml de SpermFreeze avec 26.76% glycerol

### MATÉRIEL NON COMPRIS DANS LA TROUSSE

- Paillettes en plastique

### CONDITIONS DE CONSERVATION

A conserver, dès réception, à l'abri de la lumière entre 2 et 8°C.

### PRÉCAUTIONS ET MISES EN GARDE

Toutes les matières humaine et organique utilisées doivent être considérées comme potentiellement infectieuses. Manipuler les spécimens dans les conditions prévues pour tout agent susceptible de transmettre le virus du HIV ou de l'hépatite. Toujours porter des vêtements stériles.

**Attention:** tout produit sanguin doit être considéré comme potentiellement infectieux. Les tests effectués sur les composants de ce produit se sont révélés négatifs pour la recherche d'anticorps anti HIV, HBc, HCV, et HTLV I/II et non réactifs aux virus HBsAg, HCV RNA, HIV-1 RNA et à la syphilis. Aucune méthode de test connue ne peut donner l'assurance que les dérivés sanguins ne transmettront pas d'agents infectieux.

### RÉFÉRENCES

Conf. version Anglais.

Distribué en France par JCD SA, 4 bis, Quai Jean-Jacques Rousseau, 69350 La Mulatière, France.

