

VitriFreeze™ VitriThaw™

Μέσο για την υαλοποίηση και την απόψυξη ανθρώπινων εμβρύων

Αποστειρωμένο με διήθηση.
Αναφορά εγγράφου: FP09 I46 R01 B.5
Ενημέρωση: 29.01.2018



ΠΡΟΒΛΕΠΟΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ

Τα VitriFreeze και VitriThaw (VitriFreeze/Thaw) αποτελούν ένα σετ από έτοιμα για χρήση μέσα για την υαλοποίηση και την απόψυξη ανθρώπινων εμβρύων.
Μόνο για επαγγελματική χρήση.

ΓΕΝΙΚΕΣ ΠΑΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

Η υαλοποίηση η οποία είναι η διατήρηση σε εξαιρετικά χαμηλές θερμοκρασίες χωρίς κατάψυξη μπορεί να είναι πιο πλεονεκτική από τη βραδεία ψύξη (Kuleshova and Lopata, 2002). Λόγω των μεταβλητών αποτελεσμάτων μετά από την εφαρμογή μεθόδων βραδείας κατάψυξης για βλαστοκύστες, η υαλοποίηση εισήχθη ως εναλλακτική προσέγγιση.

Τα ποσοστά επιτυχίας της υαλοποίησης έχουν αυξηθεί με τη χρήση υπερταχείων διαδικασιών υαλοποίησης. Εδώ και αρκετά έτη, η υαλοποίηση βλαστοκύστεων και εμβρύων με χρήση διαφορετικών φορέων εμβρύων έχει ως αποτέλεσμα πολλές κησείς.

Προκειμένου να επιτευχθεί η ασφατική υαλοποίηση βλαστοκυστεών, σχεδιάστηκε το kit υαλοποίησης υψηλής ασφάλειας HSV (Cryo Bio System, που διατίθεται από την FertiPro N.V.) (Vanderzwalmen et al, 2000). Το άκρο της παγέτας του HSV είναι σχεδιασμένο ώστε να στηρίζει τις βλαστοκύστες σε μικρό όγκο διαλύματος υαλοποίησης επιτρέποντας ταχείς ρυθμούς ψύξης και απόψυξης σε σύγκριση με αυτούς που επιτυγχάνονται με την εμβύθιση κλειστών πλαστικών παγιδιών 0,25 ml σε υγρό άζωτο. Μια εναλλακτική, ασφατική μέθοδος είναι πλέον επίσης διαθέσιμη με την παγίδα VitriSafe.

ΣΥΝΘΕΣΗ

Τα VitriFreeze/Thaw είναι μέσα υαλοποίησης με βάση το DMSO/την αιθυλενογλυκόλη που περιέχουν επίσης PBS, σουκρόζη, Ficoll και ανθρώπινη ορολευκωματίνη (10-20 g/λίτρο).

Τα VitriFreeze/Thaw δεν περιέχουν αντιβιοτικά.

ΥΛΙΚΟ ΠΟΥ ΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΕΤΑΙ ΣΤΟ KIT

Kit VitriFreeze™ (VF_KIT1)

- » 1 φιαλίδιο μέσου προεπάωσης VitriFreeze Pre-incubation (5 ml)
- » 1 φιαλίδιο μέσου κατάψυξης VitriFreeze Freezing 1 (1 ml)
- » 1 φιαλίδιο μέσου κατάψυξης VitriFreeze Freezing 2 (1 ml)

Kit VitriThaw™ (VT_KIT1)

- » 1 φιαλίδιο μέσου απόψυξης VitriThaw Thawing 1 (5 ml)
- » 1 φιαλίδιο μέσου απόψυξης VitriThaw Thawing 2 (1 ml)
- » 1 φιαλίδιο μέσου απόψυξης VitriThaw Thawing 3(1 ml)
- » 1 φιαλίδιο μέσου απόψυξης VitriThaw Thawing 4 (1 ml)

Τα μέσα θα πρέπει να χρησιμοποιούνται με τη σειρά που εμφανίζονται παραπάνω (τα φιαλίδια μπορεί να είναι τοποθετημένα σε διαφορετική σειρά στο kit) και μπορούν να χρησιμοποιηθούν για περίπου 4 διαδικασίες.

ΥΛΙΚΟ ΠΟΥ ΔΕΝ ΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΕΤΑΙ ΣΤΟ KIT

- » τρυβλία (π.χ. Nunc 144 444)
- » δεξαμενή κατάψυξης με υγρό άζωτο
- » υδατόλουτρο (ικανό να διατηρεί θερμοκρασία 37°C)
- » πιπέτες με λεπτή άκρη
- » λαβίδες
- » συσκευή υαλοποίησης (συσκευή HSV, Cryo Bio System)
- » πάγκος LAF (κατηγορία ISO 5)
- » μικροσκόπιο

» εργαστηριακό χρονόμετρο

VITRIFREEZE/THAW ΚΑΙ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΕΜΒΡΥΩΝ

Τα VitriFreeze/Thaw μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε συνδυασμό με μέσα FertiCult (μέσα Flushing, IVF και GAIN) πριν από την κατάψυξη και μετά από την απόψυξη.

ΠΡΟΔΙΑΓΡΑΦΕΣ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ

- » Χημική σύνθεση
- » pH μεταξύ 7,20 – 7,40
- » Οσμωτικότητα :
- > Μέσο VitriFreeze Pre-incubation: 270-290mOsm/kg
- > Μέσο VitriThaw Thawing 4: 270-290mOsm/kg
- > Μέσο VitriThaw Thawing 1: 805-850 mOsm/kg
- > Μέσο VitriThaw Thawing 2: 535-565 mOsm/kg
- > Μέσο VitriThaw Thawing 3: 405-435 mOsm/kg
- » Στεριρότητα: SAL 10-3
- » Ενδοτοξίνες: < 0,25 EU/ml
- » Δοκιμασία εμβρύων ποντικού (βλαστοκύστες μετά από 96h) ≥ 80%
- » Χρήση προϊόντων καθαρότητας Ph Eur ή USP κατά περίπτωση
- » Το πιστοποιητικό ανάλυσης και το ΔΔΑΥ είναι διαθέσιμα κατόπιν αιτήματος

ΕΛΕΓΧΟΙ ΠΡΙΝ ΑΠΟ ΤΗ ΧΡΗΣΗ

- » Να μη χρησιμοποιείτε το προϊόν σε περίπτωση αλλοίωσης του χρώματος, της διαύγειας, ή εάν εμφανίζει σημάδια μικροβιακής επιμόλυνσης.
- » Να μη χρησιμοποιείτε το προϊόν εάν το πόμα του περιέκτη έχει ανοιχτεί ή είναι ελαττωματικό κατά την παράδοση του προϊόντος.

ΟΔΗΓΙΕΣ ΦΥΛΑΞΗΣ

- Να φυλάσσονται σε θερμοκρασία μεταξύ 2-8°C.
- » Να μην καταψύχονται πριν τη χρήση.
- » Να διατηρούνται μακριά από το (ηλιακό) φως.
- » Τα προϊόντα μπορούν να χρησιμοποιηθούν με ασφάλεια έως και 7 ημέρες μετά το άνοιγμα, εφόσον τηρούνται στείρες συνθήκες και τα προϊόντα φυλάσσονται στους 2-8°C.
- » Να μη χρησιμοποιείται μετά από την ημερομηνία λήξης.
- » Σταθερά μετά τη μεταφορά (μέχρι 5 ημέρες) σε υψηλή θερμοκρασία (≤ 37°C).

ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

Τα συνήθη μέτρα πρόληψης λοιμώξεων που προκαλούνται από τη χρήση φαρμακευτικών προϊόντων που παρασκευάζονται από ανθρώπινο αίμα ή πλάσμα συμπεριλαμβάνουν την επιλογή των δοτών, τον έλεγχο καθαρής δωρεάς υλικού και των δεξαμενών πλάσματος για συγκεκριμένους δείκτες λοίμωξης και την τήρηση βημάτων αποτελεσματικής παραγωγής για την απενεργοποίηση/εξάλειψη ιών. Παρά τα παραπάνω, όταν χορηγούνται φαρμακευτικά προϊόντα που παρασκευάζονται από ανθρώπινο αίμα ή πλάσμα, το ενδεχόμενο μετάδοσης λοιμωδών παραγόντων δεν μπορεί να αποκλειστεί πλήρως. Αυτό ισχύει και για άγνωστους ή αναδυόμενους ιούς και άλλα παθογόνα. Δεν υπάρχουν αναφορές αποδεδειγμένων μεταδόσεων ιών με λευκωματίνη που έχει παρασκευαστεί σύμφωνα με τις προδιαγραφές της Ευρωπαϊκής Φαρμακοποιίας με καθιερωμένες διεργασίες. Συνεπώς, να χειρίζεστε όλα τα δείγματα με τρόπο που προβλέπεται για παράγοντες μεταδοτικούς του HIV ή της ηπατίτιδας.

Να φοράτε πάντα προστατευτικό ιματισμό κατά τον χειρισμό δειγμάτων.

Να εργάζεστε πάντα υπό αυστηρές συνθήκες υγιεινής (π.χ. πάγκο LAF κατηγορίας ISO 5) για την αποφυγή ενδεχομένου επιμόλυνσης.

Μόνο για την προβλεπόμενη χρήση. Η μακροπρόθεσμη ασφάλεια της υαλοποίησης εμβρύων στα παιδιά που γεννιούνται με χρήση της διαδικασίας αυτής είναι άγνωστη.

ΜΕΘΟΔΟΣ

Βεβαιωθείτε ότι όλα τα μέσα έχουν καλά αναμειχθεί πριν από τη χρήση. Συνιστούμε ιδιαίτερα να διαβάσετε όλα τα βήματα της διαδικασίας υαλοποίησης/θέρμανσης πριν από την έναρξη της

διαδικασίας.

Προκαταρκτικά βήματα

Σε τρυβλίο 4 βοθρίων γεμίστε το πρώτο βοθρίο με 300 µl μέσου προεπάσης, το δεύτερο με VitriFreeze 1 (250 µl) και το τρίτο με διάλυμα VitriFreeze 2 (250 µl). Στη συνέχεια ανοίξτε όσες συσκευασίες HSV συσκευών θα χρειαστούν για το βήμα υαλοποίησης, λαμβάνοντας υπόψη ότι 1 συσκευή HSV μπορεί να χρησιμοποιηθεί για έως και 2 έμβρυα. Τοποθετήστε σε βολικό σημείο τα ξεχωριστά μέρη της συσκευής HSV στον πάγκο εργασίας για εύκολη πρόσβαση αργότερα κατά τη διαδικασία. Έως και 5 κύκλοι υαλοποίησης (του ίδιου ασθενούς!) μπορούν να χρησιμοποιηθούν με μία προετοιμασία μέσων. Μη χρησιμοποιείτε το ίδιο μέσο για διαφορετικούς ασθενείς!

Προετοιμασία κατάψυξης

Μεταφέρετε τα έμβρυα από το μέσο καλλιέργειας βλαστοκυστών σε κάθε διάλυμα VitriFreeze χρησιμοποιώντας το εξής πλάνο:

Στάδιο	Προεπάση	Vitri Κατάψυξη 1	Vitri Κατάψυξη 2	Θερμοκρασία
Πρώιμες βλαστοκύστες μορίδια	2'	2'	30"	Θερμοκρασία δωματίου
Βλαστοκύστη - διογκωμένη βλαστοκύστη	2'	3'	30"	37°C
Βλαστοκύστη - διογκωμένη βλαστοκύστη + τεχνητή συρρικνώση*	2'	2'	30"	Θερμοκρασία δωματίου

* Πριν από την έναρξη της διαδικασίας υαλοποίησης, προκειμένου να μειωθεί η αρνητική επίπτωση του βλαστοκόουλου οι διογκωμένες βλαστοκύστες θα πρέπει να συρρικνωθούν μειώνοντας τεχνητά με γυάλινη πιπέτα τον όγκο του βλαστοκόουλου (Vanderzwalmen et al, 2002, Son et al., 2003 Hiraoka 2004).

Υαλοποίηση

- Χρησιμοποιώντας πιπέτα με λεπτή άκρη ή άλλη κατάλληλη συσκευή, τοποθετήστε κατά μέγιστο 2 βλαστοκύστες σε όγκο περίπου 0,3 µl VitriFreeze 2, στην αύλακα που βρίσκεται στο άκρο της παγιάτας υαλοποίησης.
- Τοποθετήστε την παγιάτα υαλοποίησης στο εξωτερικό περιβλήμα και σφραγίστε τη όπως προβλέπεται στις οδηγίες χρήσης της συσκευής HSV.
- Βυθίστε τη σφραγισμένη συσκευή στο υγρό άζωτο.

Απόψυξη

- Σε τρυβλίο 4 βοθρίων γεμίστε το πρώτο βοθρίο με 1 ml VitriThaw 1, το δεύτερο με Thawing 2 (250 - 300 µl), το τρίτο με Thawing 3 (250 - 300 µl) και το τέταρτο με Thawing 4 (250 - 300 µl). Προθερμάνετε τα μέσα στους 37°C.
- Αφαιρέστε τη παγιάτα υαλοποίησης από το εξωτερικό περιβλήμα όπως προβλέπεται στις οδηγίες χρήσης της συσκευής HSV.
- Αμέσως βυθίστε τη παγιάτα υαλοποίησης σε προθερμασμένο VitriThaw Thawing 1 (37°C) και διατηρήστε τη στο μέσο 1 για 3 λεπτά.
- Μεταφέρετε σε VitriThaw Thawing 2 (37°C) και διατηρήστε στο μέσο αυτό για 2 λεπτά.
- Μεταφέρετε σε VitriThaw Thawing 3 (37°C) και διατηρήστε στο μέσο αυτό για 2 λεπτά.

6. Τέλος, μεταφέρετε σε VitriThaw Thawing 4 (37°C)

και εκπλύνετε για τουλάχιστον 1 λεπτό.

7. Μεταφέρετε σε μέσο καλλιέργειας βλαστοκυστών για συνεχή κυτταροκαλλιέργεια.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Hiraoka K., Kinutami M et al. (2004). Blastocoele collapse by micropipetting prior to vitrification gives excellent survival and pregnancy outcomes for human day 5 and 6 expanded blastocysts. Hum. Reprod., 19, 2884–2888.
- Kuleshova, L. and Lopata, A. (2002) Vitrification can be more favourable than slow cooling. Fertil. Steril., 78, 449-454.
- Son, W.Y., Yoon, S.H., Yoon, H.J., Lee, S.M. and Lim, J.H. (2003) Pregnancy outcome following transfer of human blastocyst vitrified on electron microscopy grids after induced collapse of the blastocoele, Hum. Reprod., 18, 137-139.
- Vanderzwalmen, P., Bertin, G., Debauche, C.H., Standaert, V. And Schoysman, R. (2000) In vitro survival of metaphase II oocytes and blastocysts after vitrification in an Hemi Straw (HS) system, Fertil. Steril., 74 (Suppl.), 215.
- Vanderzwalmen, P., Bertin, G., Debauche, C.H., Standaert, V., van Roosendaal, E., Vandervorst, M., Bollen, N., Zech, H., Mukaïda, T., Takahashi, K. and Schoysman, R. (2002) Births after vitrification at morula and blastocyst stages: effects of artificial reduction of the blastocoele cavity before vitrification. Hum. Reprod., 17, 744-751.
- Vanderzwalmen, P., Bertin, G., Debauche, C.H., Standaert, V., Bollen, N., van Roosendaal, E., Vandervorst, M., Schoysman, R. and Zech, H. (2003) Vitrification of human blastocyst with the Hemi-Straw carrier: application of assisted hatching after thawing. Hum. Reprod., 7, 1-8.
- S. Shen, X. Yang, M.J. Abeyta, S.L. Benedict, M.P. Rosen, M.I. Cedars (2008). Vitrification using a closed cryo-top system significantly improves day 3 embryo survival compared to slow freezing. Fertil. Steril., 90 (Suppl 1.), S293-S293.
- Zech, N.H., Lejeune, B., Zech, H., Vanderzwalmen, P. (2005). Vitrification of hatching and hatched human blastocysts: effect of an opening in the zona pellucida before vitrification. Reproductive BioMedicine Online, 11 (No 3), 355-36.
- Jelinkova, L., Ditzel, N., Reeka, N., Gagsteiger, F., Moosova, M., Pavelkova, J., Rezabek, K. (2006). The removal of ZP from blastocysts before vitrification increased their survival and also their implantation rates. Abstracts of the 22nd Annual Meeting of the ESHRE, Prague, Czech Republic, 18–21 June 2006.
- Shebl, O., Ebner, T., Sommergruber, M., Sir, A., Tews, G. (2009). Cryopreserved blastocysts have a lower implantation but an equal live birth rate as compared to fresh blastocysts of the same quality – a case – control study. Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica 88 (No. 8), 944-947.
- Ebner, T., Vanderzwalmen, P., Shebl, O., Urdl, W., Moser, M., Zech, N.H., Tews, G. (2009). Morphology of vitrified/warmed day-5 embryos predicts rates of implantation, pregnancy and live birth. Reproductive BioMedicine Online, 19 (No. 1), 72-78.

ΤΕΧΝΙΚΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ

 FertiPro N.V.
Industriepark Noord 32
8730 Beernem – Βέλγιο
Τηλ. +32 (0)50 79 18 05
Φάξ +32 (0)50 79 17 99
http://www.fertipro.com – E-mail:
info@fertipro.com


0344