

VitriFreeze™

VitriThaw™

Medium voor vitrificatie en ontthooien van humane embryo's

Gesteriliseerd door steriele filtratie.



Document referentie: FP09 I46 R01 B.5 - Update: 29.01.2018

BEOOGD GEBRUIK

VitriFreeze en VitriThaw (VitriFreeze/Thaw) zijn een set van gebruiksklare media voor vitrificatie en ontthooien van humane embryo's.

Enkel voor professioneel gebruik.

ACHTERGROND

Vitrificatie, wat gelijkstaat met bewaring bij extreem lage temperaturen zonder invriezen, kan mogelijks veelbelovender zijn dan trage koeling (Kuleshova and Lopata, 2002). Door de variërende resultaten na toepassing van de trage koelingsmethoden voor blastocysten werd vitrificatie geïntroduceerd als een alternatieve aanpak.

De slaagpercentages van vitrificatie zijn gestegen door het gebruik van ultrasnelle vitrificatieprocedures. Over de jaren heen heeft vitrificatie van blastocysten en embryo's geresulteerd in zeer veel zwangerschappen.

Om de aseptische vitrificatie van blastocysten te bekomen, werd de HSV High security vitrificatie kit (Cryo Bio System; beschikbaar bij FertiPro N.V.) ontwikkeld. De top van het HSV strootje is ontworpen om de blastocysten in een zeer klein volume vitrificatie medium vast te houden. Deze staan toe om een snelle koeling en ontthooing te laten doorgaan in vergelijking met de 0.25ml verzegelde plastieken strootjes die ondergedompeld worden in de vloeibare stikstof. Een alternatieve, aseptische methode is nu ook beschikbaar in de vorm van een VitriSafe strootje.

SAMENSTELLING

VitriFreeze/Thaw zijn DMSO/ethyleenglycol gebaseerde vitrificatiemedië die ook PBS, sucrose, Ficoll en humaan serum albumine (10-20g/Liter) bevatten.

VitriFreeze/Thaw bevat geen antibiotica.

MATERIAAL AANWEZIG IN DE KIT

VitriFreeze™ kit (VF_KIT1)

- » 1 flesje VitriFreeze Pre-incubation medium (5ml)
- » 1 flesje VitriFreeze Freezing medium 1 (1ml)
- » 1 flesje VitriFreeze Freezing medium 2 (1ml)

VitriThaw™ kit (VT_KIT1)

- » 1 flesje VitriThaw Thawing medium 1 (5ml)
- » 1 flesje VitriThaw Thawing medium 2 (1ml)
- » 1 flesje VitriThaw Thawing medium 3 (1ml)
- » 1 flesje VitriThaw Thawing medium 4 (1ml)

De media moeten gebruikt worden in de volgorde zoals hierboven vermeld (de flessen zouden in een andere volgorde in de kit kunnen zitten) en kunnen gebruikt worden voor ongeveer 4 procedures.

MATERIAAL NIET AANWEZIG IN DE KIT

- » Wellplaten (vb. Nunc 144 444)
- » Invriestank met vloeibare stikstof
- » Waterbad (om 37°C aan te houden)
- » "attenuated" pipetten
- » Pincet
- » Vitrificatie strootjes (HSV device, Cryo Bio System)
- » LAF bank (ISO Class 5)

» Microscoop

» Timer

VITRIFREEZE/THAW EN EMBRYOCULTUUR

VitriFreeze/Thaw kunnen in combinatie met FertiCult media (Flushing, IVF en GAIN medium) gebruikt worden voor het invriezen en na ontthooien.

PRODUCTSPECIFICATIES

- » Chemische samenstelling
- » pH tussen 7.20-7.40
- » Osmolaliteit:
 - VitriFreeze Pre-incubation medium: 270-290 mOsm/kg
 - VitriThaw Thawing medium 4: 270-290 mOsm/kg
 - VitriThaw Thawing medium 1: 805-850 mOsm/kg
 - VitriThaw Thawing medium 2: 535-565 mOsm/kg
 - VitriThaw Thawing medium 3: 405-435 mOsm/kg
- » Steriliteit: SAL 10⁻³
- » Endotoxines: < 0.25 EU/ml
- » Muisembryo Test (blastocysten na 96u): ≥ 80%
- » Gebruik van Ph Eur of USP-graad producten indien van toepassing
- » Certificaat van analyse en MSDS zijn beschikbaar op aanvraag.

CONTROLE VOOR GEBRUIK

- » Product niet gebruiken als het verkleurd of troebel is of enig teken van microbiële contaminatie vertoont.
- » Product niet gebruiken als de verzegeling van de fles geopend of defect is bij levering

BEWAARINSTRUCTIES

- » Bewaar tussen 2-8°C
- » Niet invriezen voor gebruik
- » Weghouden uit (zon)licht
- » De producten kunnen veilig gebruikt worden tot 7 dagen na openen, wanneer steriele omstandigheden aangehouden worden en de producten bewaard zijn bij 2-8°C
- » Niet gebruiken na de vervaldatum
- » Stabiël na transport (max. 5 dagen) bij een verhoogde temperatuur (≤ 37°C).

WAARSCHUWINGEN EN VOORZORGEN

Standaardmaatregelen om infecties door het gebruik van medicinale producten, afkomstig van humaan bloed of plasma, te voorkomen, zijn donorselectie, screening van individuele donaties en plasma pools voor specifieke merkers van infectie, alsook effectieve productiestappen voor de inactivatie/verwijdering van virussen.

Ondanks deze maatregelen, kan de mogelijke overdracht van infectieuze agentia niet volledig uitgesloten worden wanneer medicinale producten afkomstig van humaan bloed of plasma toegediend worden. Dit is ook van toepassing voor ongekende of opkomende virussen en andere pathogenen. Er zijn geen rapporten van bewezen virustransmissies met albumine, geproduceerd volgens de Europese Farmacopee specificaties, gekend. Behandel daarom alle specimina alsof ze HIV of hepatitis kunnen overdragen.

Draag altijd beschermende kledij wanneer er gewerkt wordt met dergelijke specimina. Werk altijd in strikte hygiënische omstandigheden (vb. LAF-bank ISO 5 omgeving) om mogelijke contaminatie te vermijden.

Enkel voor het beoogd gebruik. De veiligheid op lange termijn van embryo vitrificatie op kinderen geboren na deze procedure is niet gekend.

METHODE

Zorg ervoor dat alle media goed gemengd zijn voor gebruik. We raden ten eerste aan om alle stappen van de vitrificatie/verwarm procedure te lezen voor het starten van de procedure.

Voorbereidende stappen

Vul het eerste welletje van een 4-wellplaat met 300 µL Pre-incubatie medium, het tweede met VitriFreeze 1 (250 µL) en de derde met de VitriFreeze 2 oplossing (250 µL). Open vervolgens het aantal verpakkingen met HSV devices nodig om de vitrificatie stap uit te voeren. Hou rekening dat 1 HSV device 2 embryo's kan vasthouden. Plaats de afzonderlijke delen van de HSV device op de werktafel zodat je er later tijdens de procedure gemakkelijk aan kan. Tot 5 vitrificatie cycli (van dezelfde patiënt!) kunnen uitgevoerd worden met 1 media opstelling. Gebruik dezelfde media niet voor verschillende patiënten!

Voorbereiding van het invriezen

Breng de embryo's van het blastocyst celcultuurmedium over in elk van de VitriFreeze oplossingen gebruikmakend van het volgend schema:

Stadium	Pre-incub.	Vitri Freeze 1	Vitri Freeze 2	Temperatuur
Vroege Blastocyst Morulae	2'	2'	30"	Kamer-temperatuur
Blastocyst – "expanded" Blastocyst	2'	3'	30"	37°C
Blastocyst – "expanded" Blastocyst + artificiële krimping*	2'	2'	30"	Kamer-temperatuur

* Om het negatieve effect van de blastocoel te reduceren, zouden blastocysten voor het starten van de vitrificatie procedure moeten ingeklapt zijn door artificeel met een glazen pipet het volume van de blastocoel te verminderen (Vanderzwalmen et al, 2002, Son et al., 2003 Hiraoka 2004).

Vitrificatie

1. Breng, gebruikmakend van een "attenuated" pipet of een gelijkwaardig geschikt device, maximum 2 blastocysten in een volume van ongeveer 0.3µL VitriFreeze 2, in het gootje van de tip van het vitrificatie strootje
2. Plaats het vitrificatie strootje in het buitenste omhulsel en verzegel het zoals aangegeven in de bijsluiters van het HSV device.
3. Dompel het verzegelde device in de vloeibare stikstof.

Ontdooien

1. Vul de eerste well van een 4-wellplaat met 1 ml VitriThaw Thawing medium 1, de tweede met Thawing 2 (250 – 300µL), de derde met Thawing 3 (250 – 300 µL) en de vierde met Thawing 4 (250 – 300µL). Warm de media voor bij 37°C.
2. Verwijder het vitrificatie strootje van het buitenste omhulsel zoals aangegeven in de bijsluiters van het HSV device.
3. Dompel het vitrificatie strootje onmiddellijk onder in het voorverwarmde VitriThaw Thawing medium 1 (37°C) en laat in Thawing 1 voor 1 à 3 minuten.
4. Breng over in VitriThaw Thawing medium 2 (37°C) en laat in dit medium gedurende 2 minuten.

5. Breng over in VitriThaw Thawing medium 3 (37°C) en laat in dit medium gedurende 2 minuten.
6. Breng finaal in VitriThaw Thawing medium 4 (37°C) en was gedurende minstens 1 minuut.
7. Breng in blastocyst cultuurmedium voor een continue celcultuur.

BIBLIOGRAFIE

1. 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.
2. Kuleshova, L. and Lopata, A. (2002) Vitrification can be more favourable than slow cooling. Fertil. Steril., 78, 449-454.
3. 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 blastocoel, Hum. Reprod., 18, 137-139.
4. 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.
5. Vanderzwalmen, P., Bertin, G., Debauche, C.H., Standaert, V., van Roosendaal, E., Vandervorst, M., Bollen, N., Zech, H., Mukaida, T., Takahashi, K. and Schoysman, R. (2002) Births after vitrification at morula and blastocyst stages: effects of artificial reduction of the blastocoelic cavity before vitrification. Hum. Reprod., 17, 744-751.
6. 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.
7. 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.
8. 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.
9. 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.
10. 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.
11. 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.

TECHNISCHE ONDERSTEUNING



FertiPro N.V.
Industriepark Noord 32
8730 Beernem, Belgium
Tel +32 (0)50 79 18 05
Fax +32 (0)50 79 17 99
URL: www.fertipro.com
E-mail: info@fertipro.com

CE
0344