

VitriFreeze ES™ VitriThaw ES™

Μέσα γενικής χρήσης για την υαλοποίηση και θέρμανση ανθρώπινων εμβρύων: ζυγωτά, στάδιο αυλάκωσης, βλαστοκύστη
Αποστειρωμένο με διήθηση
Αναφορά εγγράφου: FP09 I46 02 R01 D.7
Ενημέρωση: 04.03.2019

ΠΡΟΒΛΕΠΟΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ

Τα VitriFreeze ES™ και VitriThaw ES™ (VitriFreeze/Thaw ES™) αποτελούν ένα σετ από υλικά έτοιμα προς χρήση, για την υαλοποίηση και τη θέρμανση ανθρώπινων εμβρύων. Το kit και το πρωτόκολλο υαλοποίησης πρώιμων σταδίων προορίζονται για χρήση με ανθρώπινα έμβρυα μεταξύ των σταδίων 2PN και βλαστοκύστεως.
Μόνο για επαγγελματική χρήση.

ΓΕΝΙΚΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

Η υαλοποίηση είναι μια μέθοδος κρυοσυντήρησης όπου ένα υγρό διάλυμα μετατρέπεται σε άμορφο στερεό, χωρίς οποιαδήποτε κρυσταλλική δομή (Rall and Fahy 1985). Η τεχνική αυτή μπορεί να είναι πλεονεκτική σε σχέση με τη βραδεία ψύξη (Stehlik 2005). Η υπερταχεία υαλοποίηση ζυγωτών και εμβρύων με χρήση «ανοικτών» συσκευών μεταφοράς όπως την «ημιπαγιέτα» («ημικαλαμάκι») ή το «VitriPlug», τα οποία επιτρέπουν την άμεση επαφή με το υγρό άζωτο, έχει ως αποτέλεσμα πολλές γεννήσεις υγιών μωρών (Vanderzwalmen, 2003). Λόγω των ευρωπαϊκών κανονισμών που καθορίζουν τις απαιτήσεις υγειονομικής ασφάλειας για την κρυοσυντήρηση ανθρώπινων κυττάρων, αναπτύχθηκαν ερμητικά κλειστοί (ασηπτικοί) περιέκτες οι οποίοι αποφεύγουν την άμεση επαφή με του εμβρύου και του υγρού αζώτου κατά τη διάρκεια της ψύξης και της μακροχρόνιας φύλαξης. Για τον σκοπό αυτό σχεδιάστηκαν το HSV (kit υαλοποίησης υψηλής ασφάλειας - Cryo Bio System) και το πόμα VitriSafe (MTG) (Vanderzwalmen, 2009). Και οι δύο συσκευές αποτελούνται από μια εσωτερική παγιέτα η οποία φέρει ειδικό αυλάκι όπου τοποθετείται μικρός όγκος διαλύματος κρυοπροστατευτικού, με ένα ή δύο έμβρυα. Η εσωτερική παγιέτα εισάγεται σε μία εξωτερική, προστατευτική θήκη η οποία σφραγίζεται πριν την εμβύθιση σε υγρό άζωτο. Λόγω της θερμομόνωσης, ωστόσο, ο ρυθμός ψύξης στις συσκευές αυτές είναι μειωμένος συγκριτικά με εκείνων στις «ανοικτές» συσκευές μεταφοράς. Συνεπώς πρέπει να διεισδύσει στα κύτταρα περισσότερο κρυοπροστατευτικό μέσο προκειμένου να διασφαλίζεται η ενδοκυτταρική κατάσταση. Το kit VitriFreeze ES™ είναι σχεδιασμένο ώστε να επιτρέπει επαρκείς ποσότητες κρυοπροστατευτικού μέσου να διεισδύουν στο έμβρυο σε διαφορετικά στάδια της ανάπτυξης. Κατά τη διάρκεια της θέρμανσης, το kit VitriThaw ES™ είναι σχεδιασμένο ώστε να αφαιρεί σταδιακά το κρυοπροστατευτικό μέσο.

ΣΥΝΘΕΣΗ

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

ΥΛΙΚΟ ΠΟΥ ΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΕΤΑΙ ΣΤΟ KIT

To VitriFreeze ES™ kit (VF_KIT1_ES) περιέχει ένα φιαλίδιο από τα ακόλουθα διαλύματα:

- » 5ml VitriFreeze ES™ Pre-incubation medium (“VPI”)
- » 1 ml VitriFreeze ES™ Freezing medium 1 (5% DMSO - 5% EG) (“VF1”)
- » 1 ml VitriFreeze ES™ Freezing medium 2 (10% DMSO - 10% EG) (“VF2”)
- » 1 ml VitriFreeze ES™ Freezing medium 3 (20% DMSO - 20% EG) (“VF3”)

VitriThaw ES™ kit (VT_KIT1_ES) περιέχει ένα φιαλίδιο από τα ακόλουθα διαλύματα

- » 5ml VitriThaw ES™ Thawing medium 1 (“VT1”)

- » 3,2 ml VitriThaw ES™ Thawing medium 2 (“VT2”)
- » 1 ml VitriThaw ES™ Thawing medium 3 (“VT3”)
- » 1 ml VitriThaw ES™ Thawing medium 4 (“VT4”)
- » 1 ml VitriThaw ES™ Thawing medium 5 (“VT5”)

Τα μέσα θα πρέπει να χρησιμοποιούνται με τη σειρά που εμφανίζονται παραπάνω (τα φιαλίδια μπορεί να είναι τοποθετημένα σε διαφορετική σειρά στο κουτί) και μπορούν να χρησιμοποιηθούν για περίπου 3-4 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, VitriSafe)
- » Πάγκος LAF (κατηγορία ISO 5), Μικροσκόπιο, Εργαστηριακό χρονομέτρο

VITRIFREEZE/THAW ES ΚΑΙ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΕΜΒΡΥΩΝ

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

ΠΡΟΔΙΑΓΡΑΦΕΣ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ

- » Χημική σύνθεση
- » pH μεταξύ 7,20 – 7,40
- » Οσμωτικότητα :
 - > VPI: 270 – 295 mOsm/kg (κριτήρια κυκλοφορίας: 270 – 290)
 - > VT2: 805 – 865 mOsm/kg (κριτήρια κυκλοφορίας: 805 – 850)
 - > VT3: 535 – 565 mOsm/kg
 - > VT4: 405 – 435 mOsm/kg
 - > VT5: 270 – 295 mOsm/kg (κριτήρια κυκλοφορίας: 270 – 290)
- » 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.
- » Το VitriFreeze ES™ Freezing medium 2 μπορεί να περιέχει σε μικρή ποσότητα ίζημα αλάτων το οποίο δεν επηρεάζει την ασφάλεια και την απόδοση του προϊόντος.

ΟΔΗΓΙΕΣ ΦΥΛΑΞΗΣ

- » Να φυλάσσονται σε θερμοκρασία μεταξύ 2-8°C.
- » Να μην καταψύχονται πριν από τη χρήση.
- » Διατηρούνται μακριά από το ηλιακό φως
- » Τα προϊόντα μπορούν να χρησιμοποιηθούν με ασφάλεια έως και 7 ημέρες μετά από το άνοιγμα, εφόσον τηρούνται στείρες συνθήκες και τα προϊόντα φυλάσσονται στους 2-8°C.
- » Να μη χρησιμοποιούνται 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 καθεμιάς 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 λευκοματίνη 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

Έως και 5 κύκλοι υαλοποίησης (του ίδιου ασθενούς) μπορούν να χρησιμοποιηθούν με μία προετοιμασία μέσωσ όπως αναφέρεται παρακάτω. Να μη χρησιμοποιείτε τα ίδιο μέσα για διαφορετικούς ασθενείς!

Ανοίξτε όσες συσκευασίες HSV συσκευών θα χρειαστούν για το βήμα υαλοποίησης, λαμβάνοντας υπόψη ότι 1 συσκευή HSV μπορεί να χρησιμοποιηθεί για 1 ή 2 έμβρυα (ελέγξτε τις οδηγίες για τη συσκευή που χρησιμοποιείτε). Τοποθετήστε σε βολικό σημείο τα ξεχωριστά μέρη της συσκευής στον πάγκο εργασίας για εύκολη πρόσβαση αργότερα κατά τη διαδικασία.

Διαδικασία υαλοποίησης: Σε τρυβλίο 4 βοθρίων γεμίστε:
250-300 μl VPI
250-300 μl VF1
250-300 μl VF2
250-300 μl VF3

Διαδικασία θέρμανσης: Σε τρυβλίο 6 βοθρίων γεμίστε:
500-800μl VT1 (με κλειστή συσκευή)
250-300 μl 1:1 αραιώση VT1 και VT2 (με κλειστή συσκευή)
250-300 μl VT2 (με κλειστή συσκευή)
500- 800 μl VT2 (με ανοιχτή συσκευή)
250-300 μl VT3
250-300 μl VT4
250-300 μl VT5

Πρωτόκολλο ψύξης με χρήση κλειστού (ασηπτικού) βοηθήματος

Θερμάνετε όλα τα μέσα του kit σε θερμοκρασία δωματίου (20-25°C) πριν από τη χρήση.

Στάδιο ανάπτυξης	VPI	VF1	VF2	VF3
Ζυγωτό 2 κυττάρων	2'	5'-10'	4'-5'	40''-60''
4-8 κυττάρων	2'	5'-7'	4'	40''-60''
Μορίδιο	2'	5'-7'	4'	40''-60''
Πρώιμη βλαστοκύστη	2'	5'-7'	4'	40''-60''
Διογκωμένη βλαστοκύστη	2'	5'-10'	4'	40''-60''

Σημείωση: Η πλήρης διαδικασία τοποθέτησης των εμβρύων στο μέσο VitriFreeze ES Freezing 3, φόρτωσης του εμβρύου στη συσκευή υαλοποίησης, εισαγωγής της συσκευής στην εξωτερική θήκη (κατά περίπτωση) και σφράγισης δεν θα πρέπει να διαρκέσει παραπάνω από 60 δευτερόλεπτα πριν από τη βύθιση της συσκευής στο υγρό άζωτο. Σε περίπτωση που η διαδικασία έχει διαρκέσει περισσότερο από 60 δευτερόλεπτα, σημειώστε το γεγονός αυτό

όστε να αναλυθούν στη συνέχεια οι επιπτώσεις στα αποτελέσματα.

Πρωτόκολλο ψύξης με χρήση ανοικτής συσκευής

Θερμάνετε όλα τα μέσα του kit σε θερμοκρασία δωματίου (20-25°C) πριν από τη χρήση.

Στάδιο ανάπτυξης	VPI	VF1	VF2	VF3
Ζυγωτό 2 κυττάρων	2'	2'	3'	30''-40''
4-8 κυττάρων	2'	2'	3'	30''-40''
Μορίδιο	2'	2'	3'	30''-40''
Πρώιμη βλαστοκύστη	2'	2'	3'	30''-40''
Διογκωμένη βλαστοκύστη*	2'	2'	4'	30''-40''

* Εάν χρησιμοποιηθεί τεχνητή συρρίκνωση (Vanderzwalmen, 2002· Son,2003)

Σημείωση: Η πλήρης διαδικασία τοποθέτησης των εμβρύων στο μέσο VitriFreeze ES Freezing 3, φόρτωσης του εμβρύου στη συσκευή υαλοποίησης, εισαγωγής της συσκευής στην εξωτερική θήκη (κατά περίπτωση) και σφράγισης δεν θα πρέπει να διαρκέσει παραπάνω από 60 δευτερόλεπτα πριν από τη βύθιση της συσκευής στο υγρό άζωτο. Σε περίπτωση που η διαδικασία έχει διαρκέσει περισσότερο από 60 δευτερόλεπτα, σημειώστε το γεγονός αυτό ώστε να αναλυθούν στη συνέχεια οι επιπτώσεις στα αποτελέσματα.

Πρωτόκολλο θέρμανσης με χρήση κλειστού βοηθήματος

Θερμάνετε όλα τα υλικά του kit σε θερμοκρασία δωματίου (20-25°C) πριν από τη χρήση. (Εναλλακτικά, και όπως αναφέρεται σε προηγούμενες εκδόσεις οδηγιών χρήσης, το VitriThaw ES™ Thawing medium 1 δύναται να θερμανθεί στους 37°C)

Στάδιο ανάπτυξης	VT1	VT1/2*	VT2	VT3	VT4	VT5
Ζυγωτό 2 κυττάρων	1'	1'	1'-2'	2'-4'	2'-4'	Εκπλύνετε για 1'-2' πριν από τη μεταφορά στο μέσο καλλιέργειας
4-8 κυττάρων	1'-1'30''	1'-1'30''	1'-2'	2'-4'	2'-4'	
Μορίδιο	1'-1'30''	1'-1'30''	1'-2'	2'-4'	2'-4'	
Πρώιμη βλαστοκύστη	1'-1'30''	1'-1'30''	1'-2'	2'-4'	2'-4'	
Διογκωμένη βλαστοκύστη	1'-1'30''	1'-1'30''	1'-2'	2'-4'	2'-4'	

* Αναμειξτε 1 μέρος VT1 με 1 μέρος VT2

Πρωτόκολλο θέρμανσης με χρήση ανοικτής συσκευής

Θερμάνετε όλα τα υλικά του kit σε θερμοκρασία δωματίου (20-25°C) πριν από τη χρήση. (Εναλλακτικά, και όπως αναφέρεται σε προηγούμενες εκδόσεις οδηγιών χρήσης, το VitriThaw ES™ Thawing medium 2 δύναται να θερμανθεί στους 37°C)

Στάδιο ανάπτυξης	VT 2	VT3	VT4	VT 5
Ζυγωτό 2 κυττάρων	2'	2'-4'	2'-4'	Εκπλύνετε για 1'-2' πριν από τη μεταφορά στο μέσο καλλιέργειας
4-8 κυττάρων	2'	2'-4'	2'-4'	
Μορίδιο	2'	2'-4'	2'-4'	
Πρώιμη βλαστοκύστη	2'	2'-4'	2'-4'	
Διογκωμένη βλαστοκύστη	2'	2'-4'	2'-4'	

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

. Rall W. et Fahy G. (1985) Ice-free cryopreservation of mouse embryos at -196°C by vitrification, Nature, 313, 573

2. Stehlik E., Stehlik J., Katayama K., et al. (2005) Vitrification demonstrates significant improvement versus slow freezing of human blastocysts. RBMonline, 11, 53-7
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 blastocoele, Hum. Reprod., 18, 137-139
4. Vanderzwalmen P., Ectors F., Grobet L. et al. (2009) Development of an aseptic vitrification technique: application to blastocysts originating from infertile patients, egg donors and after in vitro maturation. RBMOnline, 19, 700-7
5. 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., 18(7), 1504-11
6. Vanderzwalmen P., Bertin G., Debauche C.H., Standaert V., van Roosendaal E., Vandervorst M., Bollen N., Zech H., Mukaiida T., Takahash 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
7. Ebner T., Vanderzwalmen P., Wirleitner B. (2015). Atlas of vitrified blastocyst in human Assisted reproduction. Cambridge University Press
8. Kaartinen, N., et al. (2016) The freezing method of cleavage stage embryos has no impact on the weight of the newborns. J Assist Reprod Genet, 33(3), 393-399

ΤΕΧΝΙΚΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ

FertiPro N.V.



Industriepark Noord 32

8730 Beernem – Βέλγιο

Τηλ. +32 (0)50 79 18 05

Φαξ +32 (0)50 79 17 99

<http://www.fertipro.com> – E-mail:

info@fertipro.com



0344

