

VitriFreeze ES™

VitriThaw ES™

Universele media voor vitrificatie en ontdooien van humane embryo's: zygote, cleavage stadium en blastocyst



Gesteriliseerd door steriele filtratie

Document referentie: FP09 I46 02 R01 D.7 - Update: 04.03.2019

BEOOGD GEBRUIK

VitriFreeze ES™ en VitriThaw ES™ (VitriFreeze/Thaw ES™) zijn een set van gebruiksklare media voor vitrificatie en ontdooien van humane embryo's. De Early Stage vitrificatie kit en het protocol zijn bedoeld voor humane embryo's tussen 2PN en blastocyst stadium.

Enkel voor professioneel gebruik.

ACHTERGROND

Vitrificatie is een cryopreservatie procedure waarbij een vloeibare oplossing omgezet wordt in een amorfe vaste stof, vrij van enige kristallijne structuur (Ral land Fahy 1985). Deze techniek kan veelbelovender zijn dan trage koeling (Stehlik 2005). Zeer snelle vitrificatie van zygotes en embryo's gebruikmakend van een 'open' drager zoals de 'Hemi-Straw' of 'VitriPlug', welke een direct contact met de vloeibare stikstof toelaten, heeft geresulteerd in verschillende geboortes van gezonde baby's (Vanderzwalmen, 2003).

Door Europese regulaties die medische veiligheids-vereisen voor cryopreservatie van humane cellen definiëren, werden er hermetisch gesloten (aseptische) houders ontwikkeld die direct contact tussen het embryo en de vloeibare stikstof tijdens de koeling en lange termijn opslag vermijden. Om dit doel te bereiken, werden de HSV (High Security Vitrification kit – Cryo Bio System) en de VitriSafe plug (MTG) ontwikkeld (Vanderzwalmen, 2009). Beide devices bestaan uit een binnenste strootje dat een gootje bevat waarin een klein volume cryoprotectant oplossing met één of twee embryo's geplaatst kan worden. Dit binnenste strootje wordt in een buitenste, beschermend strootje geschoven, dat afgesloten wordt voor de onderdompeling in de vloeibare stikstof.

Door de thermo-isolatie is de koelingsnelheid in deze devices lager in vergelijking met die in 'open' dragersystemen. Daardoor moet er meer cryoprotectans binnendringen in de cellen om een intracellulaire toestand te garanderen.

De VitriFreeze ES™ kit is ontworpen om voldoende hoeveelheden cryoprotectans in het embryo toe te staan op verschillende stadia van ontwikkeling. De VitriThaw ES™ kit is ontworpen om gradueel de cryoprotectanten te verwijderen.

SAMENSTELLING

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

VitriFreeze/Thaw ES™ media bevatten geen antibiotica.

MATERIAAL AANWEZIG IN DE KIT

VitriFreeze ES™ kit (VF_KIT1_ES) bevat telkens 1 fles van de volgende media:

- » 5ml VitriFreeze ES™ – Pre-incubation medium ("VP1")
- » 1ml VitriFreeze ES™ – Freezing medium 1 (5% DMSO – 5% EG) ("VF1")
- » 1ml VitriFreeze ES™ – Freezing medium 2 (10% DMSO – 10% EG) ("VF2")
- » 1ml VitriFreeze ES™ – Freezing medium 3 (20% DMSO – 20% EG) ("VF3")

VitriThaw™ kit (VT_KIT1_ES) bevat telkens 1 fles van de volgende media

- » 5ml VitriThaw ES™ – Thawing medium 1 ("VT1")
- » 3.2ml VitriThaw ES™ – Thawing medium 2 ("VT2")
- » 1ml VitriThaw ES™ – Thawing medium 3 ("VT3")
- » 1ml VitriThaw ES™ – Thawing medium 4 ("VT4")
- » 1ml VitriThaw ES™ – Thawing medium 5 ("VT5")

De media zouden gebruikt moeten worden in de volgorde zoals hierboven vermeld (de flessen kunnen in een andere volgorde in de kit zitten) en kunnen gebruikt worden voor ongeveer 3-4 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 device (HSV device, VitriSafe)
- » LAF bank (ISO Class 5)
- » Microscoop
- » Timer

VITRIFREEZE/THAW ES™ EN EMBRYOCULTUUR

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

PRODUCTSPECIFICATIES

- » Chemische samenstelling
- » pH tussen 7.20-7.40
- » Osmolaliteit:
 - VPI: 270 - 295 mOsm/kg (vrijgave criteria: 270 – 290)
 - VT2: 805 - 865 mOsm/kg (vrijgave criteria: 805 - 850)
 - VT3: 535 - 565 mOsm/kg
 - VT4: 405 - 435 mOsm/kg
 - VT5: 270 - 295 mOsm/kg (vrijgave criteria: 270 – 290)
- » 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
- » VitriFreeze ES™ – Freezing medium 2 may contain small salt precipitates which do not have an impact on product performance/safety.

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 specimens alsof ze HIV of hepatitis kunnen overdragen.

Draag altijd beschermende kledij wanneer er gewerkt wordt met dergelijke specimens. 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.

Vorbereidende stappen

» Tot 5 vitrificatie cycli (van dezelfde patiënt) kunnen uitgevoerd worden met 1 media opstelling voorbereid zoals hieronder beschreven. Gebruik dezelfde media niet voor verschillende patiënten!

» Open het aantal verpakkingen van vitrificatie devices nodig om de vitrificatie stap uit te voeren. Hou rekening dat 1 device 1 of 2 embryo's kan vasthouden (check de instructies van het device dat u gebruikt). Plaats de afzonderlijke delen van het device op de werktafel zodat je er later tijdens de procedure gemakkelijk aan kan.

» Koeling protocol: In een 4-well plaat vul:

250-300µl VPI

250-300µl VF1

250-300µl VF2

250-300µl VF3

» Ontdooi protocol: In een 6-well plaat vul:

500-800µl VT1 (met een gesloten device)

250-300µl 1:1 verdunning van VT1 en VT2 (met een gesloten device)

250-300µl VT2 (met een gesloten device)

500-800µl VT2 (met een open device)

250-300µl VT3

250-300µl VT4

250-300µl VT5

Koeling protocol met een gesloten (aseptisch) device

Verwarm alle media van de kit tot kamertemperatuur (20-25°C) voor gebruik.

Ontwikkelings-stadium	VPI	VF1	VF2	VF3
Zygote - 2-cellig	2'	5'-10'	4'-5'	40''-60''
4-8-cellig	2'	5'-7'	4'	40''-60''
Morula	2'	5'-7'	4'	40''-60''
"Early" Blastocyst	2'	5'-7'	4'	40''-60''
"Expanded" Blastocyst	2'	5'-10'	4'	40''-60''

Opmerking: Het volledige proces van het embryo plaatsen in VitriFreeze ES Freezing medium 3, het laden van het embryo op het vitrificatie device, het schuiven van het device in het buitenste strootje

(indien van toepassing) en het verzegelen zou niet langer dan 60 seconden mogen duren vooraleer het onder te dompelen in de vloeibare stikstof. Indien het proces langer dan 60 seconden duurt, maak nota hiervan om het effect op de resultaten nadien te analyseren.

Koeling protocol met een open device

Verwarm alle media van de kit tot kamertemperatuur (20-25°C) voor gebruik.

Ontwikkelings-stadium	VPI	VF1	VF2	VF3
Zygote - 2-cellig	2'	2'	3'	30''-40''
4-8-cellig	2'	2'	3'	30''-40''
Morula	2'	2'	3'	30''-40''
"Early" Blastocyst	2'	2'	3'	30''-40''
"Expanded" Blastocyst*	2'	2'	4'	30''-40''

* Als de artificiële inkrimping toegepast wordt (Vanderzwalmen, 2002; Son, 2003)

Opmerking: Het volledige proces van het embryo plaatsen in VitriFreeze ES Freezing medium 3, het laden van het embryo op het vitrificatie device, het schuiven van het device in het buitenste strootje (indien van toepassing) en het verzegelen zou niet langer dan 60 seconden mogen duren vooraleer het onder te dompelen in de vloeibare stikstof. Indien het proces langer dan 60 seconden duurt, maak nota hiervan om het effect op de resultaten nadien te analyseren.

Ontdooi protocol met een gesloten device

Verwarm alle media van de kit tot kamertemperatuur (20-25°C) voor gebruik. (Er is ook de mogelijkheid, zoals beschreven in vorige versies van de bijsluiters, om 'VitriThaw ES – Thawing medium 1' tot 37°C op te warmen).

Ontwikkelings-stadium	VT1	VT1/2*	VT2	VT3	VT4	VT 5
Zygote - 2-cellig	1'	1'	1'-2'	2'-4'	2'-4'	Was gedurende 1'-2' alvorens te transfereren naar cultuur medium
4-8-cellig	1'-1'30''	1'-1'30''	1'-2'	2'-4'	2'-4'	
Morula	1'-1'30''	1'-1'30''	1'-2'	2'-4'	2'-4'	
"Early" Blastocyst	1'-1'30''	1'-1'30''	1'-2'	2'-4'	2'-4'	
"Expanded" Blastocyst	1'-1'30''	1'-1'30''	1'-2'	2'-4'	2'-4'	

* Meng 1 deel VitriThaw ES 1 met 1 deel VitriThaw ES 2.

Ontdooi protocol met een open device

Verwarm alle media van de kit tot kamertemperatuur (20-25°C) voor gebruik. (Er is ook de mogelijkheid, zoals beschreven in vorige versies van de bijsluiters, om 'VitriThaw ES – Thawing medium 2' tot 37°C op te warmen).

Ontwikkelings-stadium	VT2	VT3	VT4	VT5
Zygote - 2-cellig	2'	2'-4'	2'-4'	Was gedurende 1'-2' vooraleer te transfereren naar cultuur medium
4-8-cellig	2'	2'-4'	2'-4'	
Morula	2'	2'-4'	2'-4'	
"Early" Blastocyst	2'	2'-4'	2'-4'	
"Expanded" Blastocyst	2'	2'-4'	2'-4'	

BIBLIOGRAFIE

1. 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., Mukaida T., Takahash 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
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

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

