

## VitriFreeze ES™

## VitriThaw ES™

Meio universal para vitrificação e aquecimento de embriões humanos: zigoto, estágio de clivagem, blastocisto



Esterilizado por filtração estéril.

Doc: Referência: FP09 I46 02 R01 D.7 - Atualização: 04.03.2019

### USO PREVISTO

VitriFreeze ES™ e VitriThaw ES™ (VitriFreeze/Thaw ES™) são um kit de meio prontos para uso para vitrificação e aquecimento de embriões humanos. O kit de vitrificação do Estágio Inicial e seu protocolo devem ser usados com embriões humanos entre 2PN e estágio blastocisto.

*Apenas para uso profissional.*

### ANTECEDENTES

Vitrificação é o procedimento de criopreservação onde uma solução líquida é convertida em um sólido amorfo, livre de qualquer estrutura cristalina (Rall and Fahy 1985). Essa técnica pode ser mais favorável que o resfriamento lento (Stehlik 2005). Vitrificação ultra-rápida de zigotos e embriões usando dispositivos de suporte “abertos” como o ‘Hemi-Straw’ ou ‘VitriPlug’, os quais permitem contato direto com o nitrogênio líquido, resultando em muitos nascimentos de bebês saudáveis (Vanderzwalmen, 2003).

De acordo com as regulações européias que determinam os requerimentos de segurança médica para criopreservação de células humanas, foram desenvolvidos recipientes hermeticamente fechados (assépticos) que evitam que o embrião e nitrogênio líquido durante o congelamento e armazenamento a longo prazo. Para esse propósito, foram desenvolvidos o HSV (palheta da Cryo Bio System) e a capa VitriSafe da MTG (Vanderzwalmen, 2009). Ambos os dispositivos consistem em uma palheta interna que contém uma calha na qual um volume pequeno de solução crioprotetora é depositado com um ou dois embriões. Essa palheta interna é inserida em uma palheta protetora externa que é selada antes de ser imersa em nitrogênio líquido. Devido ao isolamento térmico, no entanto, a taxa de congelamento nesses dispositivos é reduzida se comparada à dos dispositivos de suporte “abertos”. Assim, mais crioprotetor tem que penetrar na célula visando garantir o estado intracelular.

O kit de VitriFreeze ES™ foi projetado para permitir que quantidades suficientes de crioprotetor entrem no embrião nos diferentes estágios de desenvolvimento. Durante o aquecimento, o kit De VitriThaw ES™ foi projetado para remover gradualmente os crioprotetores.

### COMPOSIÇÃO

VitriFreeze/Thaw ES™ são meios de vitrificação com base de dimetilssulfóxido (DMSO)/etileno glicol, que também contém tampão fosfato salino (PBS), sacarose, Ficoll e albumina do soro humano (10-20 g/Litro). Os meios Des VitriFreeze/Thaw ES™ não contém antibióticos.

### MATERIAL INCLUSO NO KIT

**VitriFreeze ES™ kit (VF\_KIT1\_ES)** contém 1 frasco de cada meio:

- » 5ml VitriFreeze ES™ – Pre-incubation medium (“VPI”)
- » 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)** contém 1 frasco de cada meio
- » 5ml VitriThaw ES™ – Thawing medium 1 (“VT1”)
  - » 3.3ml 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”)

O meio deve ser usado na ordem mostrada acima (os frascos podem estar em ordem diferente na caixa) e podem ser utilizados em aproximadamente 3-4 procedimentos.

### MATERIAL NÃO INCLUSO NO KIT

- » Placa de poço (ex. Nunc 144 444)
- » Tanque de congelamento com nitrogênio líquido
- » Banheira de água (capaz de manter 37°C)
- » Pipetas de diluição
- » Fórceps
- » Dispositivo de vitrificação (HSV, VitriSafe)
- » Fluxo laminar (ISO Classe 5)
- » Microscópio
- » Temporizador de laboratório.

### VITRIFREEZE/THAW ES E EMBRIOCULTURA

VitriFreeze/Thaw ES™ pode ser usado em combinação com o GAIN™ medium /FertiCult™ medium (Flushing, IVF) antes do congelamento e após o descongelamento

### ESPECIFICAÇÕES DO PRODUTO

- » Composição química
- » pH entre 7.20-7.40
- » Osmolalidade:
  - VPI: 270 - 295 mOsm/kg (critério de liberação: 270 – 290)
  - VT2: 805 - 865 mOsm/kg (critério de liberação: 805 - 850)
  - VT3: 535 - 565 mOsm/kg
  - VT4: 405 - 435 mOsm/kg
  - VT5: 270 - 295 mOsm/kg (critério de liberação: 270 – 290)
- » Esterilidade: SAL 10<sup>-3</sup>
- » Endotoxinas: < 0.25 EU/ml
- » Ensaio com embriões de camundongos (blastocistos após 96h) ≥ 80%
- » Uso de produtos de graduação Ph Eur ou USP se necessário.
- » O certificado de análise e MSDS estão disponíveis sob demanda.

### VERIFICAÇÕES PRÉ-USO

- » Não use o produto se ele se tornar descolorido, turvo ou mostrar qualquer sinal de contaminação bacteriana.
- » Não use o produto se o lacre do recipiente estiver aberto ou defeituoso quando o produto for entregue.
- » VitriFreeze ES - Freezing medium 2 pode conter pequenos sais precipitados que não tem impacto na performance/segurança do produto.

### INSTRUÇÕES DE ARMAZENAMENTO

- » Armazenar entre 2-8°C.
- » Não congelar antes de usar.
- » Proteja da luz solar.
- » Os produtos podem ser usados com segurança até 7 dias depois de abertos quando mantidas condições estéreis e os produtos armazenados a 2-8°C.
- » Não usar após data de expiração.
- » Estabilizar após o transporte (max. 5 dias) a temperaturas elevadas (≤ 37°C).

### AVISOS E PRECAUÇÕES

Medidas padrão para prevenir infecções resultantes do uso de produtos médicos preparados a partir de sangue ou plasma

humano incluem uma seleção de doadores, rastreio de doações individuais e análise de plasma para marcadores de infecção específicos e a inclusão de etapas efetivas de inativação/remoção de vírus durante a fabricação. Apesar disso, quando o produto medicinal é preparado a partir de sangue ou plasma humano é administrado, a possibilidade de transmissão de agentes infecciosos não pode ser excluída. Isso também se aplica a vírus e outros patógenos desconhecidos emergentes. Não há trabalhos que provem transmissão viral com albumina fabricada sob as especificações da Farmacopéia Européia. Portanto, manuseie todos os espécimens como capazes de transmitir HIV ou hepatites.

Sempre use vestuário protetor quando manuseando espécimens. Sempre trabalhe sob condições de higiene rígidas (ex. Fluxo laminar ISO Classe 5) para evitar possível contaminação.

Apenas para a utilização prevista. A segurança a longo prazo da vitrificação embrionária nas crianças nascidas por meio desse procedimento ainda é desconhecida

## MÉTODOS

Se assegure de que todos os meios estão bem misturados antes do uso. É fortemente aconselhável que sejam lidos atentamente todas as etapas do processo de vitrificação/descongelamento antes do início do procedimento

### Etapas preliminares

» Até 5 ciclos de vitrificação (de um mesmo paciente) podem ser feitos com um conjunto do meio preparado como indicado abaixo. Não use o mesmo meio para pacientes diferentes!

» Abra quantos pacotes de dispositivos de vitrificação quanto serão necessários para a etapa de vitrificação, levando em consideração que 1 dispositivo pode ter 1 ou 2 embriões (cheque as instruções do dispositivo). Coloque as partes separadas do dispositivo no fluxo de trabalho para ter fácil acesso a eles conforme forem necessários.

» Procedimento de resfriamento: Em placa de 4 poços:

250-300 µl VPI

250-300µl VF1

250-300µl VF2

250-300µl VF3

»» Procedimento de aquecimento: Em placa de 6 poços:

500-800 µl VT1 (com dispositivo fechado)

250-300µl 1:1 diluição de VT1 e VT2 (somente para dispositivo fechado)

250-300µl VT2 (com dispositivo fechado)

500-800µl VT2 (com dispositivo aberto)

250-300µl VT3

250-300µl VT4

250-300µl VT5

### Protocolo de resfriamento usando um dispositivo fechado (asséptico)

Esquente todos os meios do kit para temperatura ambiente (20-25°C) antes do uso.

Estágio de desenvolvimento	VPI	VF1	VF2	VF3
Zigoto de 2 células	2'	5'-10'	4'-5'	40''-60''
4-8 células	2'	5'-7'	4'	40''-60''
Mórula	2'	5'-7'	4'	40''-60''
Blastocisto inicial	2'	5'-7'	4'	40''-60''
Blastocisto expandido	2'	5'-10'	4'	40''-60''

**Nota:** O processo completo de colocação do embrião no meio VitriFreeze ES Freezing medium 3, carregando o embrião no dispositivo de vitrificação, inserindo o dispositivo em uma palheta externa (se adequado) e o isolamento não deve demorar mais de 60s antes de mergulhar o dispositivo no nitrogênio líquido. No caso de o procedimento levar mais de 60s, faça nota disso para analisar o efeito dos resultados posteriormente

### Protocolo de resfriamento usando um dispositivo aberto

Esquente todos os meios do kit para temperatura ambiente (20-25°C) antes do uso.

Estágio de desenvolvimento	VPI	VF1	VF2	VF3
Zigoto de 2 células	2'	2'	3'	30''-40''
4-8 células	2'	2'	3'	30''-40''
Mórula	2'	2'	3'	30''-40''
Blastocisto inicial	2'	2'	3'	30''-40''
Blastocisto expandido*	2'	2'	4'	30''-40''

\* Se o encolhimento artificial for usado (Vanderzwalmen, 2002; Son, 2003)

**Nota:** O processo completo de colocação do embrião no meio VitriFreeze ES Freezing medium 3, carregando o embrião no dispositivo de vitrificação, inserindo o dispositivo em uma palheta externa (se adequado) e o isolamento não deve demorar mais de 60s antes de mergulhar o dispositivo no nitrogênio líquido. No caso de o procedimento levar mais de 60s, faça nota disso para analisar o efeito dos resultados posteriormente.

### Protocolo de descongelamento usando um dispositivo fechado

Aqueça todos os meios do kit em temperatura ambiente (20-25°C) antes do uso. (Alternativamente e como indicado em versão anterior das instruções de uso, VitriThaw ES™ – Thawing medium 1 pode ser aquecido á 37°C).

Estágio de desenvolvimento	VT1	VT1/2*	VT2	VT3	VT4	VT5
Zigoto de 2-células	1'	1'	1'-2'	2'-4'	2'-4'	Lave em 1'-2' antes de transferir para o meio de cultura
4-8 células	1'-1'30''	1'-1'30''	1'-2'	2'-4'	2'-4'	
Mórula	1'-1'30''	1'-1'30''	1'-2'	2'-4'	2'-4'	
Blastocisto Inicial	1'-1'30''	1'-1'30''	1'-2'	2'-4'	2'-4'	
Blastocisto expandido	1'-1'30''	1'-1'30''	1'-2'	2'-4'	2'-4'	

\* Misture 1 parte de VitriThaw ES 1 com 1 parte de VitriThaw ES 2.

### Protocolo de descongelamento usando um dispositivo aberto

Aqueça todos os meios do kit em temperatura ambiente (20-25°C) antes do uso. (Alternativamente e como indicado em versão anterior das instruções de uso, VitriThaw ES™ – Thawing medium 2 pode ser aquecido á 37°C).

Estágio de desenvolvimento	VT2	VT3	VT4	VT5
Zigoto de 2-células	2'	2'-4'	2'-4'	Lave em 1'-2' antes de transferir para o meio de cultura
4-8 células	2'	2'-4'	2'-4'	
Mórula	2'	2'-4'	2'-4'	
Blastocisto Inicial	2'	2'-4'	2'-4'	
Blastocisto expandido	2'	2'-4'	2'-4'	

## BIBLIOGRAFIA

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

## IMPORTADOR BRAZIL:

INTERMEDICAL EQUIPAMENTOS UROLÓGICOS  
LTDA

RUA PAISSANDU 288 – LARANJEIRAS

RIO DE JANEIRO – RJ

CEP: 22210-080

01.856.395/0001-91

Se ocorrer problemas usando este produto, favor entrar em contato com nosso Atendimento ao Consumidor:

(021) 2196-6100.

## RESPONSÁVEL TÉCNICO IN BRAZIL:

Ronaldo Reis Fontoura – CRM 525 1022-5

Registro: 80308320068 (VetriFreeze ES) ; 80308320071

(VetriThaw ES)

## 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](http://www.fertipro.com)

E-mail: [info@fertipro.com](mailto:info@fertipro.com)



0344

