

VitriFreeze™ VitriThaw™

Наборы сред для витрификации и оттаивания эмбрионов человека

Документ №: FP09 I46 R01 B.5

Дата издания: 29.01.2018 г.

ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

VitriFreeze и VitriThaw (VitriFreeze/Thaw) представляют собой наборы готовых к использованию сред для витрификации и оттаивания эмбрионов человека.

Только для профессионального применения.

ВВЕДЕНИЕ

Витрификация - это способ консервации при сверхнизких температурах без замораживания, который может быть более благоприятным, чем медленное охлаждение (Kuleshova and Lorata, 2002). Из-за вариабельности результатов при применении методов медленной заморозки бластоцист, в качестве альтернативного подхода была разработана витрификация. Показатели успешных исходов при витрификации возросли при применении процедур сверхбыстрой витрификации. За последние годы витрификация бластоцист и эмбрионов с использованием различных носителей эмбрионов привела к большому числу беременностей. Для проведения асептической витрификации бластоцист были разработаны витрификационные наборы «HSV High Security vitrification kit», CryoBioSystem (Vanderzwalmen et al, 2000). Кончик соломинки HSV разработан таким образом, чтобы удерживать бластоцисты в очень малом объеме витрификационного раствора, что позволяет проводить более быструю заморозку и оттаивание по сравнению с результатами, получаемыми с использованием запечатанных 0,25 мл пластиковых соломинок в жидком азоте.

СОСТАВ

VitriFreeze / VitriThaw представляют собой основанные на ДМСО/этиленгликоле витрификационные среды, содержащие также фосфатно-солевой буфер, сахарозу, фиколл и человеческий сывороточный альбумин (10-20 г/л).

VitriFreeze / VitriThaw не содержат антибиотиков.

МАТЕРИАЛЫ, ВКЛЮЧЁННЫЕ В НАБОР

- Набор VitriFreeze (каталожный номер VF_KIT1)
 - 1 фл. x 5 мл среды для предварительной инкубации VitriFreeze Pre-incubation medium
 - 1 фл. x 1 мл среды для замораживания VitriFreeze Freezing medium 1
 - 1 фл. x 1 мл среды для замораживания VitriFreeze Freezing medium 2
- Набор VitriThaw (каталожный номер VT_KIT1)
 - 1 фл. x 5 мл среды для оттаивания VitriThaw Thawing medium 1
 - 1 фл. x 1 мл среды для оттаивания VitriThaw Thawing medium 2
 - 1 фл. x 1 мл среды для оттаивания VitriThaw Thawing medium 3
 - 1 фл. x 1 мл среды для оттаивания VitriThaw Thawing medium 4

Среды должны использоваться в указанном выше порядке (флаконы в наборе могут быть расставлены в ином порядке в упаковке); среды могут быть использованы для приблизительно 4 процедур.

МАТЕРИАЛЫ, НЕ ВКЛЮЧЁННЫЕ В НАБОР

- Чашки с лунками

- емкость для замораживания с жидким азотом
- Водяная баня, способная поддерживать температуре 37 °С
- Дозирующие пипетки
- Щипцы
- Носители для витрификации
- Ламинарный шкаф (класса 5 ISO)
- Микроскоп
- Таймер лабораторный

VITRIFREEZE / VITRITHAW И КУЛЬТИВИРОВАНИЕ ЭМБРИОНОВ

Среды VitriFreeze и VitriThaw могут использоваться в комбинации со средами FertiCult (Flushing medium, GAIN medium) до замораживания и после оттаивания.

СПЕЦИФИКАЦИЯ ПРОДУКТА

- Химический состав
- pH: 7,20 – 7,40
- Осмоляльность
 - среда для предварительной инкубации VitriFreeze Pre-incubation medium: 270-290 mOsm/кг
 - среда для оттаивания VitriThaw Thawing medium 1: 805-850 mOsm/кг
 - среда для оттаивания VitriThaw Thawing medium 2: 535-565 mOsm/кг
 - среда для оттаивания VitriThaw Thawing medium 3: 405-435 mOsm/кг
 - среда для оттаивания VitriThaw Thawing medium 4: 270-290 mOsm/кг
- Бактериальные эндотоксины: < 0,25 ЕЭ/мл
- Стерильность: Стерильно (SAL 10⁻³)
- Биотест на эмбрионах мышей (бластоцисты после 96 ч): ≥ 80%
- Используются исходные материалы качества Евр. Фарм. или Фарм. США, где применимо
- Сертификат анализа и паспорт безопасности: по запросу

ПРОВЕРКА ПЕРЕД ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ

- Не используйте продукт, если он стал обесцвеченным, замутненным или проявляет любые признаки микробиологического загрязнения;
- Не используйте продукт, если защитный колпачок флакона снят или поврежден при доставке продукта.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ХРАНЕНИЮ

- хранить при температуре 2 °С – 8 °С;
- не замораживать перед использованием;
- хранить в защищенном от света месте;
- продукты могут быть безопасно использованы в течение 7 дней после вскрытия при условии соблюдения стерильности и хранения при температуре от 2 °С до 8 °С;
- Не использовать после истечения срока годности.
- Продукт устойчив к транспортировке (до 5 суток) при повышенных температурах (до 37 °С).

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Стандартные меры профилактики инфекций, возникающих от использования медицинских изделий, приготовленных из крови или плазмы человека, включают выбор доноров, скрининг индивидуального донорского материала и пулов плазмы на специфические маркеры инфекций, и включение эффективных этапов производства для инактивации/удаления вирусов. Несмотря на это, при использовании медицинских изделий, приготовленных из крови или плазмы человека, вероятность передачи инфекционных агентов не может быть полностью исключена. Это также относится к неизвестным или появляющимся вирусам и другим патогенам. Отчеты о доказанной передаче вирусов с

помощью альбумина, произведенного в соответствии со спецификациями Европейской Фармакопеи с помощью установленных процессов, отсутствуют. Таким образом, работайте со всеми образцами так, как если бы они могли передавать ВИЧ или гепатит.

Всегда надевайте защитную одежду при работе с образцами. Всегда работайте со строгим соблюдением условий гигиены во избежание возможной контаминации (напр., с использованием ламинарного шкафа класса ISO 5).

Использовать только для целевого применения. Долгосрочная безопасность витрификации эмбрионов в отношении детей, рожденных с применением данной процедуры, не установлена.

МЕТОД

Перед применением удостоверьтесь, что все среды хорошо перемешаны.

Внимательно прочитайте все нижеизложенные этапы процедур витрификации/оттаивания перед началом работы.

Предварительные этапы

В 4-луночной чашке заполните первую лунку 300 мкл среды для предварительной инкубации VitriFreeze Pre-incubation medium, вторую – средой для замораживания VitriFreeze Freezing medium 1 (250 мкл), и третью – средой для замораживания VitriFreeze Freezing medium 2 (250 мкл).

Затем вскройте столько соломинок, сколько необходимо для этапа витрификации, учитывая, что 1 соломинка (HSV) удерживает до 2-х эмбрионов. Удобно разложить составные части соломинок на рабочей поверхности для упрощения их дальнейшего использования в процедуре. С помощью одного набора сред может быть проведено до 5 циклов витрификации (для одного пациента!). Не используйте одну и ту же среду для нескольких пациентов!

Подготовка к замораживанию

Перенесите эмбрионы из среды для культивирования бластоцист в каждую из сред набора VitriFreeze поочередно по следующей схеме:

Стадия	Пред-инкубационная среда VitriFreeze Pre-incubation medium, время выдерживания	Среда для замораживания VitriFreeze Freezing medium 1, время выдерживания	Среда для замораживания VitriFreeze Freezing medium 2, время выдерживания	Температура
Ранние бластоцисты, морулы	2 минуты	2 минуты	30 секунд	Комнатная температура
Бластоцисты – расширенные бластоцисты	2 минуты	3 минуты	30 секунд	37 °C
Бластоцисты – расширенные бластоцисты + искусственное сжатие*	2 минуты	2 минуты	30 секунд	Комнатная температура

* Для снижения негативного воздействия бластоцеля, до начала процедуры витрификации расширенные бластоцисты должны быть сжаты путем искусственного редуцирования объема бластоцеля с помощью стеклянной пипетки (Vanderzwalmen et al 2002, Son et al. 2003, Hiraoka 2004).

Внимание! Важно, чтобы биологический образец и среды для замораживания имели одну и ту же температуру!

Витрификация

1. Используя дозирующую пипетку или иное подходящее устройство, поместите максимум 2 бластоцисты в объеме среды для замораживания VitriFreeze Freezing medium 2 приблизительно в 0,3 мкл, в желобок кончика витрификационной соломинки.
2. Поместите витрификационную соломинку во внешнюю оболочку и запечатайте ее, следуя инструкции к носителю.
3. Опустите запечатанную соломинку в жидкий азот.

Оттаивание

1. В 4-луночной чашке заполните первую лунку 1 мл среды для оттаивания VitriThaw Thawing medium 1, вторую – средой для оттаивания VitriThaw Thawing medium 2 (250-300 мкл), третью – средой для оттаивания VitriThaw Thawing medium 3 (250-300 мкл), и четвертую – средой для оттаивания VitriThaw Thawing medium 4 (250-300 мкл). Проведите предварительное нагревание сред до 37 °С.
2. Извлеките витрификационную соломинку из внешней оболочки, следуя инструкции по применению носителя.
3. Незамедлительно поместите соломинку в предварительно нагретую до 37 °С среду для оттаивания VitriThaw Thawing medium 1 и оставьте в среде на 3 минуты.
4. Перенесите в среду для оттаивания VitriThaw Thawing medium 2 (температура среды 37 °С) и оставьте на 2 минуты.
5. Перенесите в среду для оттаивания VitriThaw Thawing medium 3 (температура среды 37 °С) и оставьте на 2 минуты.
6. Перенесите в среду для оттаивания VitriThaw Thawing medium 4 (температура среды 37 °С) и промывайте в течение по крайней мере 1 минуты.
7. Перенесите в культуральную среду для бластоцист для дальнейшего культивирования.

ПРОИЗВОДИТЕЛЬ:

FertiPro N.V., Бельгия

www.fertipro.com

ЭКСКЛЮЗИВНЫЙ ДИСТРИБЬЮТОР В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ:

ООО «Селл Диагностик»

Адрес для почтовых отправлений: 220020 Минск, а/я 5

Тел.: +375 29 391 16 90

Факс: +375 17 395 88 09

E-mail: cell.diagnost@gmail.com

www.celldiagnostic.by



0344



СПИСОК ЛИТЕРАТУРНЫХ ИСТОЧНИКОВ

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 blastocoele, 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.