REPRO BANK
BANCO DE SEMEN Y ÓVULOS

DESVITRIFICACIÓN DE ÓVULOS

Estimados colegas,

En el día de la fecha (……../……../……..) hemos homogeneizado protocolos de trabajo y revisado los pasos claves para el manejo de ovocitos vitrificados. Nuestro banco de gametos maneja una sobrevida entre 70-80%. Por debajo del 50% de sobrevida, podremos reponer parte o el total de los ovocitos entregados siempre y cuando se sigan las siguientes de variables técnicas al momento de la desvitrificación:
NOTA IMPORTANTE: Exceptuando el paso del medio TS a 37ºc, la desvitrificación debe ser realizada a TEMPERATURA AMBIENTE (no sobre superficies calefactadas).

1) REPROBANK recomienda el uso de medios Kitazato (vitrificacion cod 91171, desvitrificacion cod 91182). Si no se usan estos medios, no podremos reponer material que no sobreviva en la manipulación.

2) Calentar el medio TS a 37°C <u>al menos durante 2 horas</u>. Para ello se pueden utilizar tanto los incubadores con CO2 utilizados normalmente para cultivo embrionario (tomando la precaución de mantener los tubos de TS completamente cerrados) o cualquier tipo de incubador o receptáculo que solo provea temperatura. Ver abajo fotos de ejemplos.
NOTA: el compartimiento de incubadoras trigaseadas no suele ser suficiente para atemperar de manera adecuada los medios antes de su uso.

DESVITRIFICACIÓN DE ÓVULOS

3) Los medios DS y WS deben sacarse de la heladera, y colocarlos a temperatura ambiente, al menos 1 hora antes previo a su uso.

4) Utilizar siempre las placas de Kitazato las cuales poseen pocillos para realizar la desvitrificación.

5) Respetar SIEMPRE los volúmenes indicados por el proveedor. Para los medios Kitazato usar 300ul de DS y 300ul x 2 de WS. Es importante alicuotar los medios en las placas de Kitazato justo antes de realizar el procedimiento y no con más anterioridad porque esto podría provocar evaporación del medio y cambio en su composición y osmolaridad. Del medio TS pueden utilizarse 2mL por cada cryotop a desvitrificar.

6) Preparar previamente TODO lo necesario para la desvitrificación: la placa con los medios, el stripper o chupador de boca, el cronómetro, quitar el capuchón del cryotop, etc. Una vez todo listo, se comienza con el proceso de desvitrificación.

7) Al momento de colocar el cryotop conteniendo los ovocitos congelados en el TS, debemos hacer una muy breve pausa entre la sacada del mismo del nitrógeno, y sumergirlo en el TS. Esta pausa consta de menos de 1 segundo y es para que se evapore cualquier resto de nitrógeno líquido que quede en el cryotop y así evitar la formación de burbujas en el mismo una vez sumergido en el TS.

8) Una vez sumergido en el TS, los ovocitos por lo general demoran entre 10-30 segundos en soltarse del soporte. Durante estos primeros 30 segundos dejar inmóvil el cryotop en el TS. Si aún no se han despegado pasados los 30 segundos entonces podemos hacer movimientos controlados hacia adelante y atrás con el cryotop como si lo estuviéramos agitando dentro del TS. Si aún no se despegan podemos utilizar el stripper para despegarlos mecánicamente con cuidado.

9) Cumplir de manera ESTRICTA los tiempos indicados por el proveedor de medios.

DESVITRIFICACIÓN DE ÓVULOS

10) Una vez desvitrificados, colocar en medio de cultivo para gametas (Recomendamos Global Total for Fertilization o GIVF plus) y esperar al menos 3 horas para realizar el ICSI.

11) Es MUY IMPORTANTE tener el mayor cuidado en el traspaso de los cryotops dentro del nitrógeno líquido. Estos, DE NINGUNA MANERA pueden ser expuestos a temperatura ambiente; deben estar SIEMPRE sumergidos en nitrógeno.

12) Utilizar cajas de telgopor de gran tamaño para poder trabajar tranquilos con los cryotops sumergidos en nitrógeno líquido.

Quedamos a disposición ante cualquier duda.
Cordialemente,
Equipo REPROBANK