

FertiCult™ IVF medium

Milieu de culture cellulaire pour la culture in vitro d'embryons humains, pendant les premières 48 heures en culture

Référence du document : FP09 I07 R01 FR B.5



Mise à jour : 30/SEP/2014

INFORMATIONS GÉNÉRALES

Le milieu FIV FertiCult est une formulation prête à l'emploi pour la culture *in vitro* d'embryons de mammifères. Le milieu a été conçu pour une culture de courte durée uniquement (jusqu'à 48 heures en culture). Le milieu est complet et ne nécessite pas d'additifs.

Si l'on préfère, du sérum du patient 10 % v/v peut être additionné.

Le milieu de culture FIV convient pour les microgouttelettes recouvertes d'huile et se prête également à la culture dans des boîtes pour culture d'organes Falcon 3037 (ainsi que les boîtes de culture 4 puits Nunc).

Comme pour tous les milieux de FIV, le milieu FertiCult FIV doit être **pré incubé dans un incubateur CO₂ avec 5-6 % CO₂ pendant 24 heures avant emploi** (couvercle ouvert).

MATÉRIEL CONTENU DANS LE KIT

Code produit	Description produit
FECU020	5 x 20ml de milieu FertiCult FIV
FECU050	5 x 50ml de milieu FertiCult FIV
FECU100	3 x 100ml de milieu FertiCult FIV
FECU020PHR	5 x 20ml 5 x 20ml de milieu FertiCult FIV avec rouge de phénol
FECU050PHR	5 x 50ml 5 x 20ml de milieu FertiCult FIV avec rouge de phénol
FECU100PHR	3 x 100ml 5 x 20ml de milieu FertiCult FIV avec rouge de phénol
FECU020PHR_G	5 x 20ml de milieu FertiCult FIV avec rouge de phénol et gentamicine
FECU050PHR_G	5 x 50ml de milieu FertiCult FIV avec rouge de phénol et gentamicine
FECU100PHR_G	3 x 100ml de milieu FertiCult FIV avec rouge de phénol et gentamicine

MATÉRIEL NON INCLUS DANS LE KIT

- Incubateur à 37 °C (5-6% de CO₂)
- Boîtes de Petri (p. ex. Falcon 3037)
- Huile minérale (p. ex. Huile minérale FertiCult)
- Hotte à flux d'air laminaire (environnement ISO 5)
- Microscope
- Éprouvettes

SPÉCIFICATIONS DU PRODUIT

- Composition chimique
- pH : entre 7,20 - 7,50 (37°C – 5-6% CO₂)
- Osmolalité : 270 - 290 mOsm/kg
- Stérilité : stérile (SAL 10⁻³)
- Endotoxines : < 0.25 EU/ml
- Test MEA de survivance embryonnaire (blastocystes après 96h) : ≥ 80 % (après 48 h d'exposition à partir du stade zygote)
- Utilisation de produits de la pharmacopée européenne (Ph Eur) ou américaine (USP) le cas échéant
- Certificat d'analyse et fiches de sécurité disponibles sur demande

VÉRIFICATIONS AVANT UTILISATION

- Ne pas utiliser le produit en cas de décoloration (si le milieu contient du rouge de phénol), trouble ou s'il présente des signes de contamination microbienne
- Ne pas utiliser le produit si le scellé du contenant est rompu ou défectueux à la livraison du produit

INSTRUCTIONS DE STOCKAGE

- Stable après transport (maximum 5 jours) à température élevée (≤ 37°C)
- Conserver entre 2-25°C, après ouverture conserver entre 2-8°C. Produit avec gentamicin: conserver entre 2-8°C
- Ne pas congeler avant utilisation.
- Tenir à l'abri de la lumière (du soleil).
- Après ouverture du contenant, ne plus utiliser le produit après 7 jours.
- Ne pas utiliser une fois la date de péremption dépassée.

AVERTISSEMENTS ET MESURES DE SÉCURITÉ

Les mesures standard pour prévenir les infections résultant de l'utilisation de médicaments préparés à partir de sang ou de plasma humains incluent la sélection des donneurs, la recherche de marqueurs spécifiques d'infection sur les dons individuels et les mélanges de plasma et l'inclusion d'étapes de fabrication efficaces pour l'inactivation/élimination virale. Toutefois, lorsque des médicaments préparés à partir de sang ou de plasma humains sont administrés, la possibilité de transmission d'agents infectieux ne peut être totalement exclue. Ceci s'applique également aux virus inconnus ou

émergents et autres agents pathogènes. Aucune transmission de virus n'a été rapportée avec l'albumine fabriquée conformément aux spécifications de la pharmacopée européenne selon les procédés établis.

Il faut manipuler les spécimens dans les conditions prévues pour les agents susceptibles de transmettre le VIH ou l'hépatite.

Il convient de toujours porter des vêtements de protection lors de la manipulation des spécimens.

Il faut veiller à toujours travailler dans les conditions d'hygiène stricte (par exemple, poste de travail avec de laminaire classe ISO 5) pour éviter une éventuelle contamination, même si le milieu FertiCult FIV contient du gentamicine.

Le milieu FertiCult avec rouge de phénol et gentamicine contient l'antibiotique sulfate de gentamicine. Des précautions adaptées devront être prises pour garantir que le patient n'est pas sensible à cet antibiotique.

MÉTHODE

PRÉPARATION POUR UTILISATION EN MICROGOUTTELETTES

Pour les microgouttelettes, entre 100 µl et 250 µl de milieu de FertiCult FIV peuvent être distribués autour de la boîte de culture, jusqu'à 8 par boîte de 60 mm.

Ensuite, la boîte est remplie de 5ml d'huile minérale légère, prélevée et pré-équilibrée (non toxique et ayant subi de préférence le test de biocompatibilité par essai sur embryon de souris, p. ex. Huile minérale FertiCult).

Généralement, un ovocyte est placé en culture avec environ 10 000 spermatozoïdes par microgouttelette. Si chaque patiente attend 16 ovocytes, au moins deux boîtes par patiente devront être préparées. Les boîtes sont ensuite placées dans l'incubateur (généralement non humidifié) pour équilibrer pendant une nuit à 37 °C et sous 5-6% de CO₂ dans l'air.

L'équilibrage pendant la nuit est hautement recommandé.

PRÉPARATION POUR UNE UTILISATION EN SYSTÈME OUVERT

Dans les systèmes ouverts tels que les boîtes Nunc ou Falcon, placer environ 1 ml de milieu dans chaque puits.

Placer 3 ml de milieu dans le réservoir situé autour des puits. Cela permettra de maintenir une certaine humidité et de laver les ovocytes et les embryons.

Jusqu'à cinq ovocytes par boîte (ou puits en cas d'utilisation de boîtes Nunc) peuvent être mis en culture ensemble, généralement avec environ 100 000 spermatozoïdes par puits.

Donc, si chaque patiente attend 15 ovocytes lors de la collecte des ovocytes, au moins six boîtes par patiente devraient être préparées (trois pour la conservation et le lavage initiaux des ovocytes pendant la collecte et ensuite trois boîtes pour la culture pendant la nuit).

Pour les boîtes Nunc, deux devraient être suffisants (comme il y a 4 puits par boîte, les 8 puits ainsi disponibles devraient largement suffire).

Ensuite, les boîtes sont placées dans l'incubateur pour équilibrer pendant une nuit à 37 °C et sous 5-6% de CO₂ dans l'air.

Comme pour la méthode à base de microgouttelettes, **l'équilibrage pendant la nuit est hautement recommandé.**

Avec les systèmes ouverts, il n'y a pas besoin de paraffine, mais l'on peut parfois ajouter une couche de 1 ml d'huile minérale par-dessus le milieu dans le puits intérieur. En cas d'utilisation d'un tel système ouvert, l'incubateur doit être humidifié.

CULTURE

Après équilibrage pendant la nuit, les boîtes préparées sont prêtes à l'emploi. Au cours de la collecte des ovocytes, les ovocytes sont repérés dans le liquide d'aspiration folliculaire, puis lavés avant d'être placés dans les puits ou dans les gouttelettes dans la boîte (selon le cas). Lorsque la collecte des ovocytes est terminée, les ovocytes seront vérifiés et pourront subir un second lavage avant d'être placés dans des gouttelettes/puits neufs pour être mis en culture pendant une nuit.

En général, 6 heures après la collecte des ovocytes, les ovocytes seront inséminés avec le sperme préparé et laissés dans l'incubateur pour la nuit. Les procédures décrites ci-dessus s'appliquent aux 24 premières heures en culture. Lorsque les embryons ont été repérés par la présence de deux pronucléi, ceux-ci sont généralement placés dans des boîtes neuves contenant du milieu frais.

Par le passé, alors qu'on utilisait du sérum de cordon ombilical ou du sérum du patient, le milieu initial en contenait 10 % et le milieu de changement (après confirmation de la fertilisation) 15 %.

Avec le milieu FertiCult FIV, il n'y a pas besoin de protéines supplémentaires lors du changement. Les boîtes doivent être préparées comme décrit ci-dessus, équilibrées pendant la nuit, après quoi elles seront prêtes à recevoir les embryons nouvellement fertilisés.

NB. La culture en éprouvettes est rare de nos jours, mais pour ceux qui continuent à utiliser cette méthode, placer 1 ml de milieu FertiCult FIV dans chaque tube et suivre ensuite la même procédure que celle pour les boîtes Falcon ou Nunc.



FertiPro N.V. - Industriepark Noord 32 - 8730 Beernem, Belgium

Tel +32 (0)50 79 18 05 - Fax +32 (0)50 79 17 99

URL: <http://www.fertipro.com> - E-mail: info@fertipro.com