

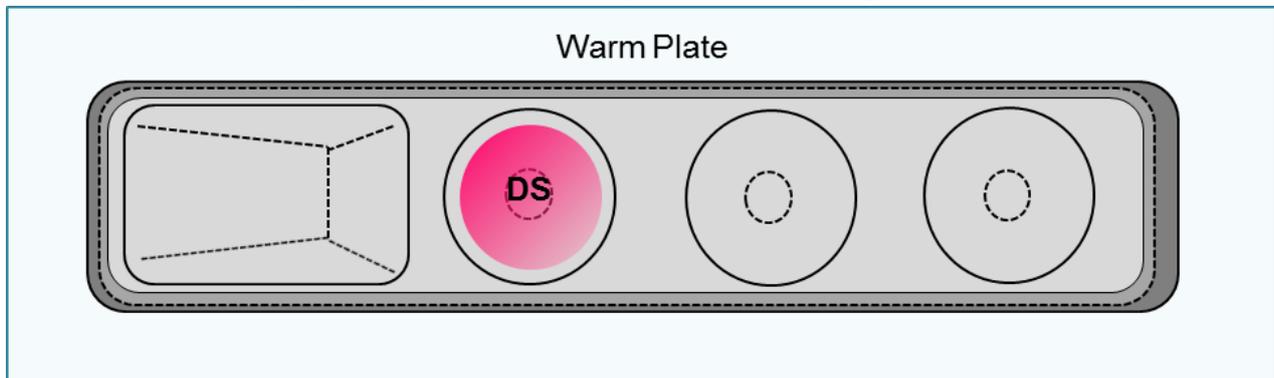
Warming (Descongelamiento)

Material

- **Cryotech Vitrification Kit**
 - Solución de Warming (TS): 1 vial de 1.8 ml
 - Solución de Dilución (DS): 1 vial de 0.5 ml
 - Solución de Lavado (WS): 1 vial de 1ml
 - 1 Placa de descongelamiento con 4 wells
- Lupa estereoscópica (Apague la platina térmica)
- Cronómetro
- Micro pipeta para 300µl

Preparación

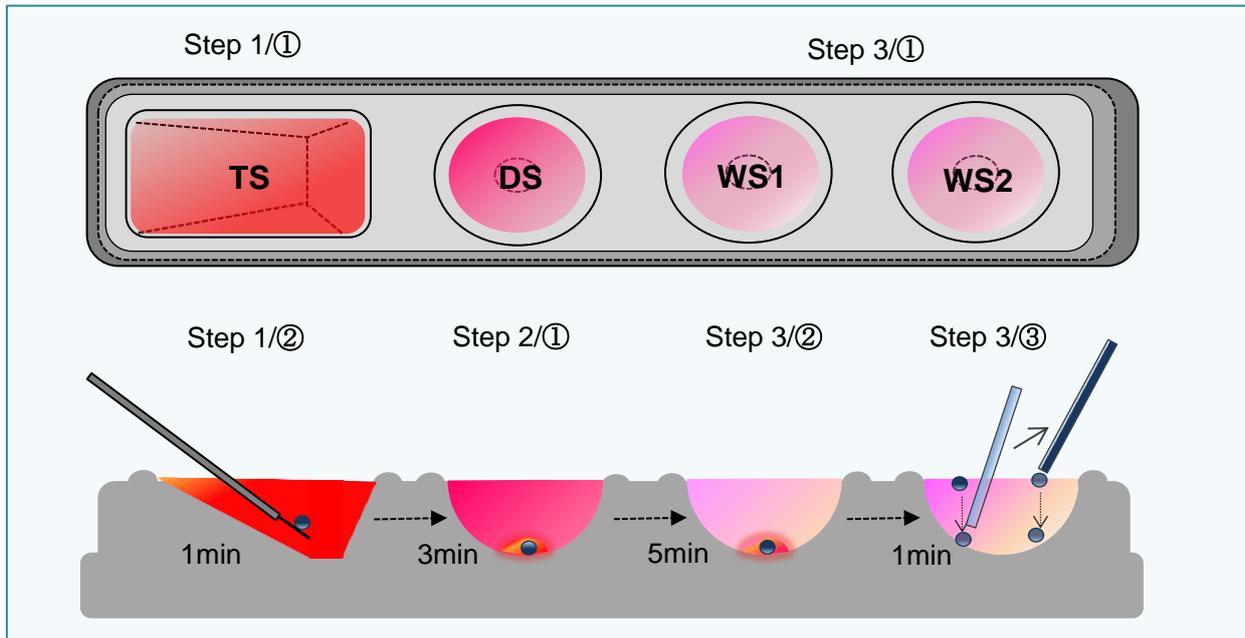
Fig. 7. Preparación de la placa de descongelamiento



1. Ponga la Placa de descongelamiento y el vial TS (tapado) en la incubadora a 37°C >3 horas antes del procedimiento (se recomienda toda la noche).
2. Ponga el vial de DS y WS a temperatura ambiente (25~27°C) al menos 1 hora antes de usar.
3. Prepare el nitrógeno líquido.
4. Saque el contenedor del Cryotec del paciente y colóquelo en el nitrógeno líquido preparado para el procedimiento. Ponga el Cryotec dentro del recipiente con nitrógeno (en todo momento los Cryotecs debes estar sumergidos dentro del nitrógeno).
5. Saque la Placa de descongelamiento de la incubadora y llene el segundo well con 300 µl de DS (Fig. 7.)

Warming (1 min)

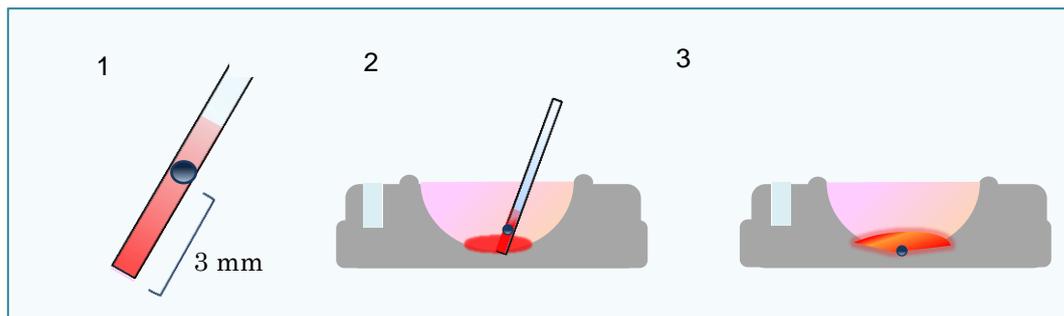
Fig. 8. Procedimiento para warming (Step 1-3)



1. Saque el TS de la incubadora y vuelque el contenido en el well rectangular de TS (1.8 ml, Fig. 8, Step 1/1).
2. Rápidamente (en 1 seg) coloque la lámina del Cryotec en el well de TS. Inicie el cronómetro. (Fig. 8, Step 1/2). Deberá estar en TS por 1 min.
3. El oocito/embrión se separará del Cryotec por si solo y estará libre en el medio.

Dilution (3 min)

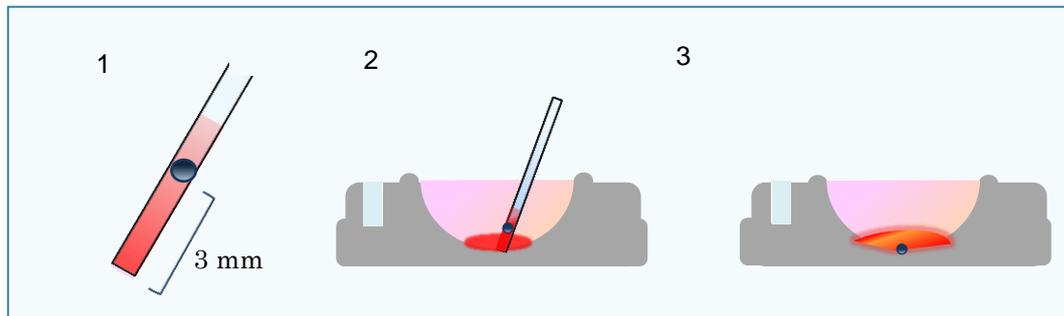
Fig. 9. Reemplazo gradual de las soluciones (TS→DS)



1. Aspire el oocito/embrión y 3 mm de TS dentro de la pipeta (Fig. 9, 1).
2. Expulse suavemente el contenido de la pipeta en el fondo y centro del DS (Fig. 9, 2), de manera que se forme una pequeña capa de TS en el fondo del well de DS (Fig. 9, 3). Espere 3 min (Fig. 8, Step 2/1).
3. Mientras espera llene con 300 µl de Solución de Lavado los well WS1 y WS2 (Fig. 8, Step 3/1).

Lavado 1 (5 min)

Fig. 10. Reemplazo gradual de las soluciones (DS→WS1)



4. Aspire el oocito/embrión y 3 mm de DS dentro de la pipeta (Fig. 10, 1).
5. Expulse suavemente el contenido de la pipeta en el fondo y centro del WS1 (Fig. 10, 2), de manera que se forme una pequeña capa de DS en el fondo del well de WS1 (Fig. 10, 3). Observe la morfología del oocito/embrión y recuérdela. Apague la luz y espere 3 minutos.
Espere 5 min (Fig. 7, Step3/2).
6. Luego de esos tres minutos evalúe la sobrevida del oocito/embrión comparando la morfología con la misma de hace tres minutos. Si se trata de un blastocisto pasarán 3 horas más para que recupere su blastocele.
7. Espere 5 minutos en total (Fig. 8, Step 3/2).

Lavado 2 (1 min)

7. Aspire el oocito/embrión con mínimo volumen de WS1.
8. Coloque el oocito/embrión en la superficie well WS2 (Fig. 8, Step3/3).
9. Cuando el oocito/embrión se hunda al fondo del well, aspirelo nuevamente y colóquelo en la superficie para que sea lavado en este medio 2 veces en total.
10. Finalmente lleve el oocito/embrión al su medio de cultivo para recuperación final e ICSI o ET.
(Luego del warming, se recomiendan 2 a 4 horas de cultivo para oocitos y 3 horas para embriones).