

# EMBRYOFREEZE/THAW®



## COMPOSITION ///

Propanédiol /  
PBS /  
Sucrose /  
HSA /

**EMBRYOFREEZE ET EMBRYOTHAW (EMBRYOFREEZE/THAW) SONT DES MILIEUX DESTINÉS À LA CONGÉLATION ET À LA DÉCONGÉLATION DES EMBRYONS HUMAINS ENTRE LE STADE 2PN ET LE STADE 4 CELLULES.**

## EMBRYOFREEZE/THAW ET CULTURE EMBRYONNAIRE

EMBRYOFREEZE/THAW peut être utilisé avec le milieu FERTICULT (hépès ou normal) avant congélation et après décongélation.

## CONSERVATION

1 an entre 4 °C et 8 °C

## RÉFÉRENCE ET CONDITIONNEMENT

Ref. EMF-T

Coffret comprenant :

- 3 flacons de milieu EMBRYOFREEZE (10 ml)
- 3 flacons de EMBRYOFREEZE / THAWING solution 1 (10 ml)
- 3 flacons de EMBRYOFREEZE / THAWING solution 2 (10 ml)
- 3 flacons de EMBRYOFREEZE / THAWING solution 3 (10 ml)

## MODE D'UTILISATION

Vérifier que tous les milieux soient bien mélangés avant utilisation. Contrôler visuellement toute contamination.

### Congélation /

1. À l'aide d'une pipette stérile, placer 1 ml de milieu EmbryoFreeze / Freezing dans une boîte à 1 puits central (à température ambiante).
2. Ajouter les embryons (au stade 2 PN) au milieu de congélation et les laisser se stabiliser pendant 30 secondes.  
Attention : leur densité étant différente, les embryons ont tendance à remonter à la surface et à se rétrécir comme des raisins.
3. Charger les embryons dans les paillettes en laissant environ 1/5<sup>e</sup> d'air dans la paillette.
4. Sceller les paillettes et les étiqueter avec le nom, la date et le nombre d'embryons.
5. Débuter le programme de congélation dans les 5 à 10 minutes.

### Décongélation /

1. Placer 1 ml de chaque solution de décongélation dans une boîte de culture 4 puits. Laisser un puits vide pour récupérer les embryons congelés/décongelés.
2. Préparer un bain d'eau à 37 °C pour décongeler les paillettes. Préparer une seringue à tuberculine de 1 ml en la remplissant de 0,8 ml d'air puis de 0,2 ml de solution de décongélation n° 1.
3. Retirer les paillettes de l'azote et les laisser à température ambiante pendant environ 5 secondes.
4. Submerger la paillette dans le bain à 37 °C pendant 5 secondes (veiller à ce qu'aucune partie congelée ne reste dans la paillette).
5. Vider la paillette en ouvrant ses deux extrémités (au-dessus du puits vide) et souffler le contenu de la seringue à travers la paillette.
6. Récupérer les embryons sous microscope et les placer dans la solution de décongélation n° 1.
7. Transférer les embryons dans la solution de décongélation n° 2 après 3-5 minutes.
8. À nouveau après 3-5 minutes les embryons sont transférés dans la solution de décongélation n° 3. Les laisser encore 3-5 minutes avant de poursuivre.
9. Au stade final, les embryons sont transférés dans un milieu de culture pour FIV pour lavage et culture ultérieure.

	Température	Courbe de congélation	Temps
Étape 1	Ambiante à 4 °C	-10 °C/min	2 minutes
Étape 2	+4 °C à -6 °C	-2 °C/min	5 minutes
Étape 3	-6 °C (autoseeding)	0 °C/min	10 minutes
Étape 4	-6 °C à -30 °C	-0.3 °C/min	80 minutes
Étape 5	-30 °C à -196 °C	-199 °C/min	1 minute