

Leistungsmerkmale des MINC+[®] Benchtop Incubator

Einleitung

Der „Inkubator für Embryokulturen ist wohl das wichtigste Gerät im Labor.“¹ Inkubatoren für die Embryokultur müssen eine konsistente interne Umgebung bieten, um Kulturvariablen wie pH und Temperatur zu stabilisieren. Darüber hinaus führt ein idealer Inkubator die internen Bedingungen nach einer Störung, wie z. B. dem Öffnen der Tür zum Entnehmen einer Petrischale, schnell auf die Gleichgewichtswerte zurück. Diese Faktoren müssen unbedingt berücksichtigt werden, wenn ein Inkubator für eine menschliche Embryokultur gewählt wird.

Vor mehr als 20 Jahren führte Cook Medical den ersten Tischinkubator für die Embryokultur ein, den MINC® (Mini-Inkubator). Seine Designmerkmale waren damals revolutionär und umfassten eine kleine Innenkammer, eine direkte Beheizung der Schale und eine aktive Befeuchtung durch Begasung einer Befeuchtungsflasche. Dank dieser Designmerkmale konnte das System die oben beschriebenen Idealparameter erreichen. Seitdem ist der MINC zum Standard geworden, an dem sich andere Tischinkubatoren messen müssen.

Seit 2022 wird Embryokulturlabors ein verbesserter Inkubator angeboten, der alle Vorteile des ursprünglichen MINC beibehält und viele Verbesserungen enthält: MINC+. Im Folgenden werden einige wichtige Leistungsmerkmale aufgeführt, gemeinsam mit einer Begründung, warum wir der Meinung sind, dass der MINC+ der beste für die IVF verfügbare Inkubator ist.

Temperaturdynamik: anfängliches Gleichgewicht und Auswirkungen der Öffnung des Deckels

Da die Stabilität der Kultur entscheidend für den Erfolg der IVF ist, stellen sich wichtige Fragen bei der Beurteilung von Inkubatoren: **Wie lange dauert es, bis das Medium ein Gleichgewicht erreicht hat, nachdem Schalen für die Embryokultur hergestellt und in den Inkubator platziert wurden? Wie wirkt sich die Entnahme einer Schale aus dem Inkubator auf Raumtemperatur für Routinebeobachtungen auf die Temperatur des Kulturmediums aus? Wie schnell kehrt die Schale zur Ausgangstemperatur zurück, wenn sie wieder in den Inkubator gestellt wird? Es wurden Experimente durchgeführt, um diese Fragen zu beantworten, und die Ergebnisse sind unten dargestellt.**

Teil 1: Erwärmung einer Schale mit Medium und Öl von Umgebungstemperatur auf 37 °C beim erstmaligen Platzieren in den Inkubator.

Diese Studie sollte die Zeit untersuchen, die eine Schale mit Medium und Öl benötigt, um den Sollwert des MINC+ (37,0 °C) zu erreichen, wenn die Komponenten zunächst Umgebungstemperatur (20–21 °C) aufweisen und dann in die Inkubatorkammer gestellt werden. Abbildung 1 zeigt die Dynamik dieser Temperaturänderung bei 30- μ l-Mediumtropfen in 35- und 60-mm-Schalen, die mit einer 3-mm-Ölschicht bedeckt sind.

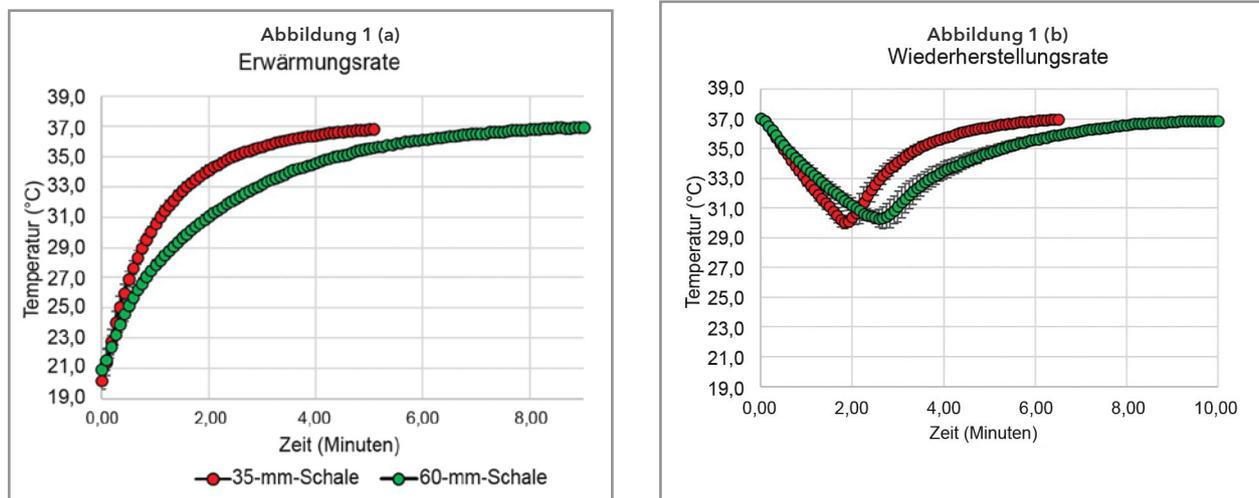


Abbildung 1 zeigt die Temperaturdynamik eines mit Öl bedeckten 30- μ l-Mediumtropfens in einer 35- oder 60-mm-Schale; er beginnt bei Raumtemperatur (20–21 °C) und wird in den MINC+ gestellt, wenn der Sollwert des MINC+ 37,0 °C beträgt (a). Die Daten zeigen, dass die Temperatur schnell ansteigt und sich asymptotisch einem Gleichgewicht (~ 37 °C) nähert. Die Entnahme der Schale in eine Umgebung mit Raumtemperatur für 2 bis 2,5 Minuten führt zu einem Temperaturabfall um etwa 7 °C (b); nach dem Zurückstellen der Schale in die Inkubatorkammer überschreitet die Temperatur 36 °C durchschnittlich innerhalb von 2,5 Minuten (35-mm-Schale) bzw. 4 Minuten (60-mm-Schale) und erreicht 37 °C in etwa 4 Minuten (35-mm-Schale) bzw. 7 Minuten (60-mm-Schale). Während dieser Messwertbestimmungen befand sich eine 40-Ga-Thermoelementverbindung vom Typ T im Mediumtropfen. Das Thermoelement wurde von Omega Engineering (Norwalk, CT, USA) bezogen und anhand eines Fluke 5610-6-P-Präzisionsthermistors validiert. Die Temperaturprotokollierung wurde unter Verwendung eines 12-Kanal-Thermoelement-Datenloggers Extech Instruments TM500 (Nashua, NH, USA) vorgenommen. Temperaturdaten wurden einmal alle 5 Sekunden erfasst. Dargestellt sind mittlere Konfidenzintervalle von \pm 95 %.

Teil 2: Temperaturverlust beim Öffnen des Deckels, wenn eine Schale auf der warmen Oberfläche des Inkubators stehen bleibt.

Abbildung 2 zeigt den Temperaturverlust für Mikrotropfen in einer 35-mm-Schale, die wie zuvor beschrieben präpariert wurde, wenn der Deckel des MINC+ über verschiedene Zeiträume geöffnet wird, wobei die Schale im Inkubator verbleibt. Bei der 35-mm-Schale (2a) sinkt die Temperatur nur um $\sim 0,1$ °C, wenn der Inkubatordeckel 5 Sekunden geöffnet ist. Selbst eine Dauer von 25 Sekunden verursacht nur einen minimalen Temperaturverlust von 0,1 bis 0,2 °C. Bei einem Tropfen in einer 60-mm-Schale ist der Temperaturverlust ähnlich. Der Temperaturabfall beträgt bei bis zu 25 Sekunden 0,0 bis 0,2 °C.

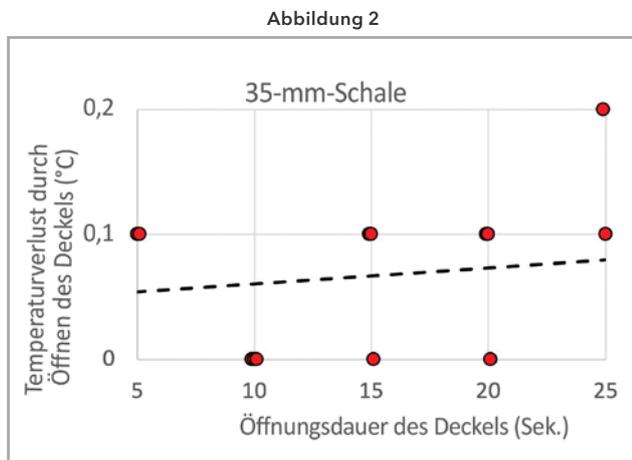


Abbildung 2. Die Grafik zeigt die Beziehung zwischen der Temperaturabnahme eines Kulturmediumtropfens in einer 35-mm-Schale, wenn der Deckel des MINC+ für unterschiedliche Zeiträume offen gehalten wird, wobei die Schale im Inkubator verbleibt. Eine leichte Abhängigkeit der Temperaturabnahme von der Zeit wurde bei der Regressionsanalyse festgestellt (gestrichelte Linie). Temperaturmesswerte wurden wie in der Legende zu Abb. 1 beschrieben ermittelt und mit einer Frequenz von einer Ableseung pro Sekunde gesammelt. Mehrere der Datenpunkte hatten identische Werte (z. B. hatten alle 3 Punkte bei 10 Sekunden einen Wert von 0 °C). Zur Unterscheidung der Punkte wurden einige der Zeitwerte um 0,1 °C versetzt, um mehrere Punkte an einer Stelle im Diagramm anzuzeigen.

Gasdynamik: Wiederherstellung der CO₂-Konzentration beim Schließen des Deckels

Wie schnell wird die Gaskonzentration im Inkubator nach dem Öffnen und Schließen des Deckels wiederhergestellt?

Abbildung 3 zeigt die im Inkubator gemessene CO₂-Konzentration nach Öffnen und Schließen des Deckels. Messungen wurden an 6 verschiedenen Positionen innerhalb des Inkubators durchgeführt. Dargestellt sind der Mittelwert und der Standardfehler der sechs Messungen. Die Konzentration nähert sich asymptotisch dem Gleichgewicht (6,43 %) und liegt nach 3 Minuten über 95 % dieses Werts.

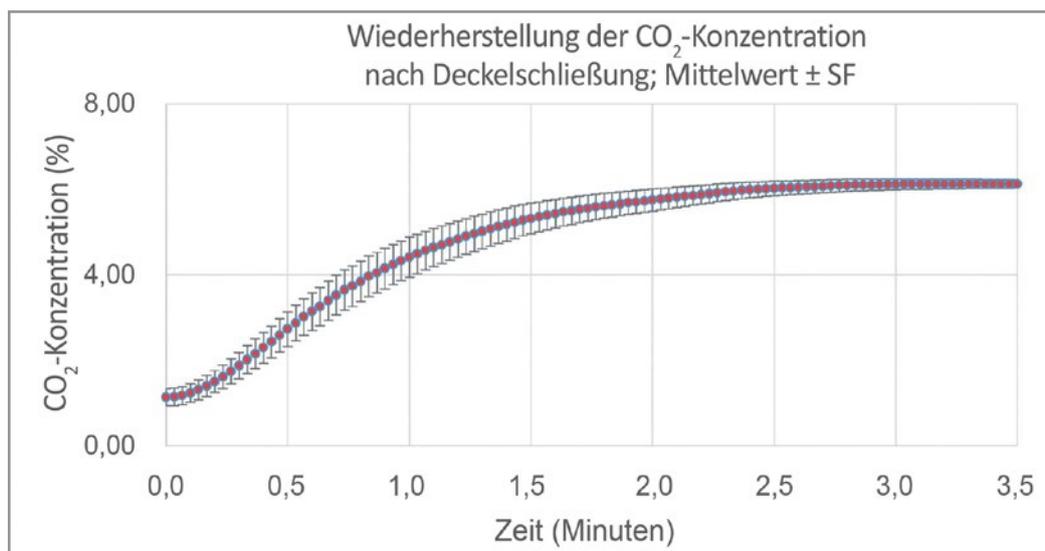


Abbildung 3. Dargestellt ist die Dynamik der CO₂-Konzentration in der Kammer des MINC+ nach Öffnen und Schließen des Deckels. Die Daten repräsentieren den Mittelwert \pm Standardfehler in 2-Sekunden-Intervallen. Kohlendioxidkonzentrationen wurden mit einem kalibrierten K30 10 % CO₂-Sensor und der Gaslab-Software von CO2meter.com in Intervallen von 2 Sekunden gemessen. Die CO₂-Konzentration der Gasquelle wurde mit 6,43 % gemessen und wird in unserem Labor zur Aufrechterhaltung des mittleren pH-Werts auf einem gewünschten Niveau verwendet (siehe Quelle 3 für umfassende Erörterung des pH-Werts in der Embryokultur).

Diskussion

Wir haben hier einen Überblick über einige der Leistungsmerkmale des neuen MINC+ Benchtop Incubator von Cook Medical bereitgestellt. Cook blickt auf eine langjährige Erfahrung im Bereich der klinischen In-vitro-Fertilisation zurück und weiß um die Bedeutung von Konsistenz für die Qualität. Der MINC+ wurde entwickelt, um das gleiche Maß an Stabilität und Leistung wie MINC, der erste Tischinkubator, zu bieten, jedoch mit zusätzlichen Funktionen und Vorteilen.

Es gilt im Allgemeinen als wichtig, eine kontrollierte Umgebung für eine menschliche Embryokultur aufrechtzuerhalten, um optimale Ergebnisse zu erzielen.^{1,2} Dazu gehören Parameter wie Temperatur sowie pH-Wert und Osmolalität des Kulturmediums. Daher ist die Wahl des Inkubators für die Embryokultur für die Etablierung eines hervorragenden Embryokultur-Systems von größter Bedeutung.

Hier beschreiben wir die Ergebnisse von Studien zur Bewertung der Leistungsmerkmale des neuen MINC+ Benchtop Incubator von Cook Medical.

In der ersten Studie haben wir die Geschwindigkeit der Temperaturänderung von der Umgebungstemperatur auf 37 °C sowie von 30–37 °C untersucht, wobei letzteres mit einer Entnahme der Schalen aus dem Inkubator für 2–2,5 Minuten zusammenhängt, wie bei der Kontrolle der Befruchtung und Embryonalentwicklung üblich. Die Zeit, die erforderlich ist, um nach dem Öffnen des Deckels zum thermischen Gleichgewicht zurückzukehren, ist ähnlich wie beim ersten MINC-Inkubator.^{4,5} Diese Ergebnisse waren nicht überraschend, da im MINC+ Inkubator das gleiche Heizsystem wie im ersten MINC-Inkubator verwendet wird.

Die zweite Studie diente der Beurteilung des Temperaturverlusts eines Mediumtropfens in einer Schale, wenn die Schale auf der Oberfläche des Inkubators verblieb, während der Deckel für eine für die Entnahme einer Schale aus dem Inkubator voraussichtlich erforderliche Zeitdauer geöffnet wurde (während dieser Studie und auch von anderen ermittelt).⁵ In Anbetracht der sehr effektiven Methode der Temperaturerhaltung in den MINC-Inkubatoren wurden nur sehr geringe Auswirkungen der Deckelöffnung auf die Tropfentemperatur festgestellt. Bei einer 35-mm-Schale sank die Temperatur bei einer Deckelöffnungsdauer zwischen 5 und 25 Sekunden nur um 0,1 bis 0,2 °C. In der Studie, in der derselbe Effekt bei einer 60-mm-Schale untersucht wurde, war der Temperaturverlust derselbe wie bei der 35-mm-Schale (0,2 C).

Die Temperatur ist ein wichtiger Parameter in einem Embryokultur-System. Temperaturschwankungen können zu nachteiligen Auswirkungen auf die meiotische Spindel in reifen Eizellen,⁶ die Entwicklungskinetik, die Blastozystenqualität und den Stoffwechsel führen.⁷ Diese Ergebnisse zeigen den Wert des überlegenen Temperaturregelungssystems, das im MINC+ Inkubator wie im ursprünglichen MINC verwendet wird. Die Entnahme von Schalen aus der Kammer des MINC+ zur Beurteilung hat einen vernachlässigbaren Einfluss auf die Temperatur des Mediums in anderen in der Kammer verbleibenden Schalen.

Die dritte Studie liefert weitere Beweise dafür, dass der MINC+ ein robustes Design hinsichtlich der Aufrechterhaltung der Umgebung der Embryokultur während des routinemäßigen Gebrauchs aufweist. Nach dem Öffnen und anschließenden Schließen des Deckels kehrte die CO₂-Konzentration innerhalb von etwa 3 Minuten auf Werte nahe dem Gleichgewicht zurück. Die Kinetik einer solchen Rückkehr sollte die durch Deckelöffnungen verursachten pH-Schwankungen im Kulturmedium minimieren.

Die Aufrechterhaltung des pH des Mediums ist für die normale Entwicklung des Embryos wichtig.⁸ Das kann insbesondere für die frühesten Stadien der präimplantativen Entwicklung der Fall sein, da unbefruchtete Oozyten mehrerer Säugetierspezies nicht über einige häufige Ionenaustauschmechanismen zur Regulierung des intrazellulären pH verfügen^{9,10}, die offenbar erst mehrere Stunden nach Befruchtung wiederhergestellt werden.¹¹ Darüber hinaus ist der pH des Mediums ein wesentlicher Parameter für die Befruchtung, wobei bei Säugetierspezies ein leicht alkalischer pH optimal ist.^{12,13,14} Es darf nicht vergessen werden, dass das Bicarbonat-Ion auch eine wesentliche Komponente einiger grundlegender Prozesse ist, einschließlich der Kapazitation,^{12,15,16} und dass diese Variablen in Studien, in denen die Auswirkungen des einen oder anderen Parameters auf Befruchtung und Embryokultur untersucht werden, häufig vermischt werden.⁸ Die Berücksichtigung der Bedeutung von pH als Variable bei der IVF und der Embryokultur und die Verwendung eines Inkubators, der stabile CO₂-Konzentrationen aufrechterhält und die CO₂-Konzentration nach einer Störung schnell wiederherstellt, ist von entscheidender Bedeutung.

Frühere Daten, die die Auswirkung der Entnahme einer Schale mit Medium unter Öl auf den pH-Wert des Mediums untersuchten, zeigten, dass ein 10-minütiger Wechsel von der relativ hohen CO₂-Konzentration im Inkubator zur sehr niedrigen CO₂-Konzentration der normalen Atmosphäre sehr geringe Auswirkungen hat (pH-Änderung von 7,33 auf 7,37).³ Es wurde berichtet, dass die Entnahme der Schale aus dem Inkubator für 1, 2 oder 5 Minuten keine messbare Wirkung auf den pH-Wert hatte. Wenn eine Schale dem MINC+ entnommen werden soll, muss die Kammer nur sehr kurz geöffnet werden (in der Größenordnung von 5 Sekunden). Während dieser Zeit fällt die CO₂-Konzentration um die Schale schnell ab, wird aber relativ schnell wiederhergestellt (innerhalb von nur wenigen Minuten, wie oben gezeigt). Basierend auf den Daten aus Quelle 3 deutet dies darauf hin, dass das Öffnen des Deckels des Inkubators zum Herausnehmen einer Schale keine messbare Auswirkung auf den pH-Wert des Mediums in den Schalen hat, die im Inkubator verbleiben. Zusammen mit der Tatsache, dass die Temperatur des Mediums bei einer 5 Sekunden dauernden Öffnung des Deckels eine sehr kleine Änderung erfährt (in der Größenordnung von 0,05 bis 0,1 °C), legt das nahe, dass das Öffnen der Kammer sehr geringe Auswirkungen auf die Bedingungen des Embryokultur-Mediums in Schalen hat, die nicht aus der Kammer entnommen werden.

Cook Medical bringt eine aktualisierte Version seines Tischinkubators auf den Markt, den MINC+. Die oben beschriebenen Daten zeigen, dass der neue MINC+ Inkubator entscheidende Variablen während der Embryokultur zuverlässig aufrechterhält und damit zuverlässig in der klinischen IVF verwendet werden kann.

Quellen

1. Swain JE. Optimal human embryo culture. *Semin Reprod Med.* 2015;33(2):103-117.
2. Swain JE. Decisions for the IVF laboratory: comparative analysis of embryo culture incubators. *Reprod Biomed Online.* 2014;28(5):535-537.
3. Conaghan J. pH control in the embryo culture environment. In: Quinn P, ed. *Culture media, solutions, and systems in human ART.* Cambridge, UK: Cambridge University Press; 2014;142-154.
4. Cooke S, Tyler JPP, Driscoll G. Objective assessments of temperature maintenance using in vitro culture techniques. *J Assist Reprod Genet.* 2002;19(8):368-375.
5. Fujiwara M, Takahashi K, Izuno M, et al. Effect of micro-environment maintenance on embryo culture after in-vitro fertilization: comparison of top-load mini incubator and conventional front-load incubator. *J Assist Reprod Genet.* 2007;24(1):5-9.
6. Wang WH, Meng L, Hackett RJ, et al. Limited recovery of meiotic spindles in living human oocytes after cooling-rewarming observed using polarized light microscopy. *Hum Reprod.* 2001;16(11):2374-2378.
7. Moriyama DF, Makri D, Maalouf M-N, et al. The effects of temperature variation treatments on embryonic development: a mouse study. *Sci Rep.* 2022;12(1):2489.
8. Swain JE. Is there an optimal pH for culture media used in clinical IVF? *Hum Reprod Update.* 2012;18(3):333-339.
9. Lane M, Baltz JM, Bavister BD. Bicarbonate/chloride exchange regulates intracellular pH of embryos but not oocytes of the hamster. *Biol Reprod.* 1999;61(2):452-457.
10. FitzHarris G, Baltz JM. Regulation of intracellular pH during oocyte growth and maturation in mammals. *Reproduction.* 2009;138(4):619-627.
11. Lane M, Baltz JM, Bavister BD. Na⁺/H⁺ antiporter activity in hamster embryos is activated during fertilization. *Dev Biol.* 1999;208(1):244-252.
12. Zeng SM, Zhu SE, Wang YS, et al. An efficient method for in vitro fertilization in rabbits. *Anim Biotechnol.* 1999;10(1-2):15-23.
13. Brackett BG, Oliphant G. Capacitation of rabbit spermatozoa in vitro. *Biol Reprod.* 1975;12(2):260-274.
14. Miyamoto H, Toyoda Y, Chang MC. Effect of hydrogen-ion concentration on in vitro fertilization of mouse, golden hamster, and rat eggs. *Biol Reprod.* 1974;10(4):487-493.
15. Neill JM, Olds-Clarke P. A computer-assisted assay for mouse sperm hyperactivation demonstrates that bicarbonate but not bovine serum albumin is required. *Gamete Res.* 1987;18(2):121-140.
16. Delgado-Bermúdez A, Yeste M, Bonet S, et al. A review on the role of bicarbonate and proton transporters during sperm capacitation in mammals. *Int J Mol Sci.* 2022;23(11):6333.

Lesen Sie die produktspezifischen Informationen zu Risiken in der Gebrauchsanweisung unter [cookmedical.eu](https://www.cookmedical.eu).

Kundenservice

EU Website: cookmedical.eu
EDI: cookmedical.eu/edi
Distributors: +353 61239240, ssc.distributors@cookmedical.com
Austria: +43 179567121, oe.orders@cookmedical.com
Belgium: +32 27001702, be.orders@cookmedical.com
Denmark: +45 38487607, da.orders@cookmedical.com
Finland: +358 972519996, fi.orders@cookmedical.com
France: +33 171230269, fr.orders@cookmedical.com
Germany: +49 6950072804, de.orders@cookmedical.com
Hungary: +36 17779199, hu.orders@cookmedical.com
Iceland: +354 800 7615, is.orders@cookmedical.com
Ireland: +353 61239252, ie.orders@cookmedical.com
Italy: +39 0269682853, it.orders@cookmedical.com
Netherlands: +31 202013367, nl.orders@cookmedical.com
Norway: +47 23162968, no.orders@cookmedical.com
Spain: +34 912702691, es.orders@cookmedical.com
Sweden: +46 858769468, se.orders@cookmedical.com
Switzerland - French: +41 448009609, fr.orders@cookmedical.com
Switzerland - Italian: +41 448009609, it.orders@cookmedical.com
Switzerland - German: +41 448009609, de.orders@cookmedical.com
United Kingdom: +44 2073654183, uk.orders@cookmedical.com

USA Website: cookmedical.com

EDI: cookmedical.com/edi.do

Americas:

Phone: +1 812.339.2235, 800.457.4500, Fax: 800.554.8335
E-mail: customersupport@cookmedical.com

Australia:

Phone: +61 734346000, 1800777222, Fax: +61 734346001, 1800077283
E-mail: cau.custserv@cookmedical.com



AI-ESC-IR-OHNS-PI-RH-SUR-A4