

Características de funcionamiento del MINC+[®] Benchtop Incubator

Introducción

El "incubador para el cultivo de embriones es, sin duda, la pieza más importante del equipo de un laboratorio."¹ Los incubadores para el cultivo de embriones deben proporcionar un entorno interno constante para estabilizar las variables del cultivo como el pH y la temperatura. Además, un incubador ideal devolverá rápidamente las condiciones internas a los valores de equilibrio después de producirse una alteración, como la apertura de la puerta para retirar una placa de cultivo. Es fundamental tener en cuenta estos factores a la hora de decidir qué incubador concreto se utilizará para el cultivo de embriones humanos.

Hace más de 20 años, Cook Medical presentó el primer incubador de sobremesa para el cultivo de embriones, el MINC® (mini-incubador). En su momento, sus características de diseño fueron revolucionarias e incluían una pequeña cámara interior, calentamiento directo de la placa y humidificación activa mediante gas forzado a través de un matraz de humidificación. Estas características de diseño permitieron que el sistema alcanzara los parámetros ideales descritos anteriormente. Desde entonces, el MINC se ha convertido en el referente con el que se miden otros incubadores de sobremesa.

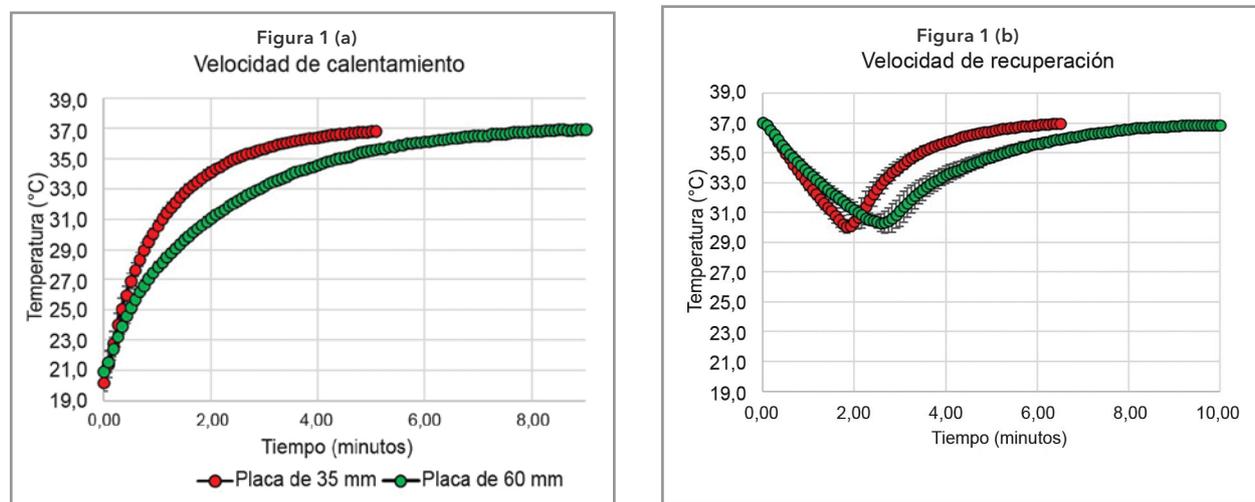
Desde 2022, se ofrece a los laboratorios de cultivo de embriones un incubador mejorado que conserva todos los beneficios del MINC original y que incluye muchas mejoras: el MINC+. A continuación se describen diversas de funcionamiento importantes y se explica por qué creemos que el MINC+ es el mejor incubador del mercado para FIV.

Dinámica de la temperatura: equilibrio inicial y efectos de la apertura de la tapa

Dado que la estabilidad del cultivo es fundamental para el éxito de la FIV, surgen preguntas importantes a la hora de evaluar los incubadores: **Cuando se preparan las placas para el cultivo de embriones y se colocan en el incubador, ¿cuánto tiempo tarda el medio en alcanzar el equilibrio? ¿Cómo afecta a la temperatura del medio de cultivo el hecho de extraer una placa del incubador a temperatura ambiente para realizar observaciones de rutina? ¿Con qué rapidez se recupera cuando se vuelve a colocar la placa en el incubador?** A continuación se presentan los resultados de los experimentos realizados para responder a estas preguntas.

Parte 1: Calentamiento de una placa con medio y aceite de temperatura ambiente a 37 °C cuando se coloca inicialmente en el incubador.

Este estudio se diseñó para evaluar el tiempo necesario para que una placa con medio y aceite alcance la temperatura consignada del MINC+ (37,0 °C) cuando los componentes parten de temperatura ambiente (20-21 °C) y luego se colocan dentro de la cámara del incubador. La Figura 1 muestra la dinámica de este cambio de temperatura en gotas de medio de 30 µL cubiertas con una capa de aceite de 3 mm en placas de 35 y 60 mm.



La Figura 1 muestra la dinámica de la temperatura de una gota de medio de 30 µL cubierta con aceite en una placa de 35 o 60 mm que parte de temperatura ambiente (20-21 °C) y se introduce en el MINC+ cuando la temperatura consignada del MINC+ es de 37,0 °C (a). Los datos muestran que la temperatura aumenta rápidamente y se acerca al equilibrio (~37 °C) de forma asintótica. Al retirar la placa a temperatura ambiente entre 2 y 2,5 minutos, la temperatura desciende unos 7 °C (b) y, a continuación, tras volver a introducir la placa en la cámara del incubador, la temperatura supera los 36 °C en una media de 2,5 minutos (placa de 35 mm) o 4 minutos (placa de 60 mm) y alcanza los 37 °C en aproximadamente 4 minutos (placa de 35 mm) y 7 minutos (placa de 60 mm). Se colocó una unión de termopar tipo T de 40 Ga en la gota del medio durante estas lecturas. El termopar se obtuvo de Omega Engineering (Norwalk, Connecticut, EE. UU.) y se validó con un termistor de precisión Fluke 5610-6-P. Para registrar la temperatura se utilizó un registrador de datos de termopar de 12 canales TM500 de Extech Instruments (Nashua, New Hampshire, EE. UU.). Los datos de temperatura se capturaron cada 5 segundos. Se muestran intervalos de confianza promedios de ±95 %.

Parte 2: Pérdida de temperatura al abrir la tapa cuando la placa permanece sobre la superficie caliente del incubador.

La figura 2 muestra la pérdida de temperatura de las microgotas en una placa de 35 mm preparada como se ha descrito anteriormente, cuando se abre la tapa de la MINC+ durante períodos de tiempo variables mientras la placa permanece en la incubadora. En el caso de la placa de 35 mm (2a), al abrir la tapa del incubador durante 5 segundos, la temperatura desciende solo ~0,1 °C. Incluso si se abre durante 25 segundos, se produce una pérdida mínima de temperatura, con una caída de solo 0,1 °C a 0,2 °C. La pérdida de temperatura es similar para una gota en una placa de 60 mm, con una bajada de la temperatura de entre 0,0 °C y 0,2 °C hasta 25 segundos.

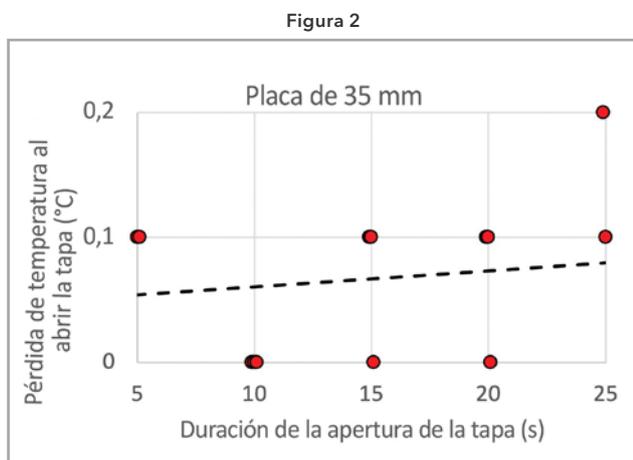


Figura 2. El gráfico muestra la relación entre la reducción de temperatura de una gota de medio de cultivo en una placa de 35 mm cuando se mantiene abierta la tapa del MINC+ durante distintos períodos de tiempo, mientras la placa permanece dentro del incubador. En el análisis de regresión se observó una ligera dependencia de la disminución de la temperatura en función del tiempo (líneas discontinuas). Las mediciones de temperatura se obtuvieron como se describe en la leyenda de la Figura 1 y se recopilaban a razón de una lectura por segundo. Muchos de los puntos de datos tenían valores idénticos (p. ej., los 3 puntos a los 10 segundos tenían un valor de 0 °C). Para distinguir los puntos, algunos de los valores temporales se compensaron en 0,1 °C para mostrar varios puntos en un mismo lugar del gráfico.

Dinámica de gases: recuperación de la concentración de CO₂ al cerrar la tapa

¿Con qué rapidez se recupera la concentración de gas dentro del incubador después de abrir y cerrar la tapa?

La Figura 3 muestra la concentración de CO₂ medida dentro del incubador después de abrir y cerrar la tapa. Las mediciones se realizaron en 6 posiciones diferentes dentro del incubador. Se presentan el promedio y el error estándar de las 6 mediciones. La concentración se aproxima asintóticamente al equilibrio (6,43 %) y supera el 95 % de ese valor a los 3 minutos.

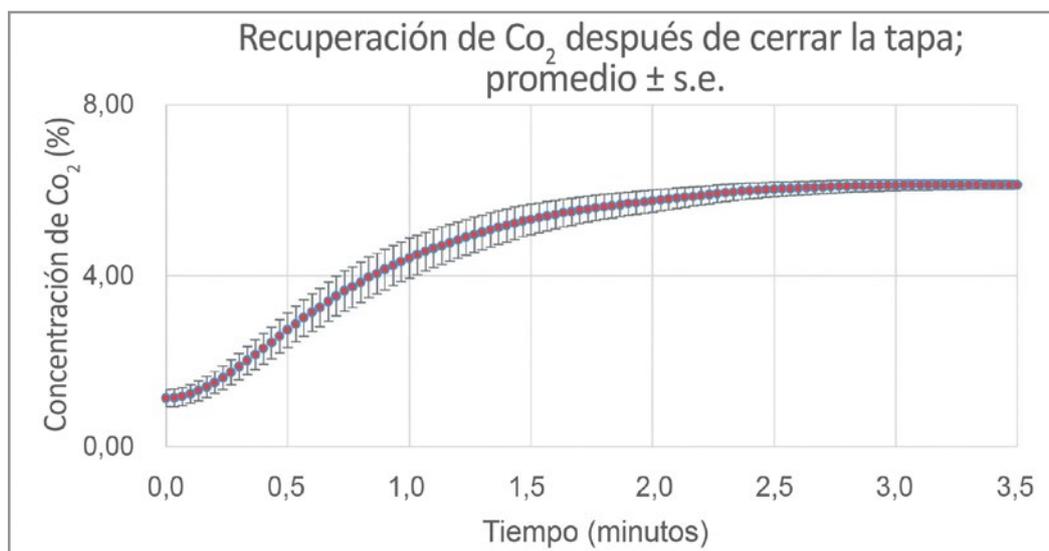


Figura 3. Se muestra la dinámica de la concentración de CO₂ dentro de la cámara del MINC+ después de abrir y cerrar la tapa. Los datos representan el promedio ± error estándar en intervalos de 2 segundos. Las concentraciones de dióxido de carbono se midieron utilizando un sensor de CO₂ calibrado al 10 % K30 y el software Gaslab de CO2meter.com a intervalos de 2 segundos. Se midió la concentración de CO₂ de la fuente de gas en un 6,43 % y se utilizó en nuestro laboratorio para mantener el pH del medio a un nivel deseado (consulte la referencia 3 para obtener información detallada sobre el pH en el cultivo de embriones).

Análisis

En este documento proporcionamos una descripción general de algunas de las características de funcionamiento del nuevo MINC+ Benchtop Incubator de Cook Medical. Cook cuenta con una larga trayectoria en el campo de la fecundación in vitro clínica y es consciente de la importancia de la uniformidad para obtener resultados de calidad. El MINC+ se ha diseñado para proporcionar el mismo nivel de estabilidad y rendimiento que el incubador de sobremesa original, el MINC, pero con características y beneficios adicionales.

Por lo general, se considera primordial mantener un entorno controlado en el cultivo de embriones humanos con el fin de lograr resultados óptimos.^{1,2} Esto incluye parámetros como la temperatura, el pH y la osmolalidad del medio de cultivo. Por lo tanto, la elección del incubador para el cultivo de embriones es fundamental para lograr un sistema de cultivo de embriones de calidad.

A continuación describimos los resultados de los estudios diseñados para evaluar las características de funcionamiento del nuevo MINC+ Benchtop Incubator de Cook Medical.

En el primer estudio, se evaluó la velocidad de cambio de la temperatura ambiente a 37 °C y también de 30 a 37 °C, estando esta última temperatura asociada a la retirada de las placas del incubador entre 2 y 2,5 minutos, como se haría para realizar un control de la fecundación y del desarrollo embrionario. El tiempo necesario para volver al equilibrio térmico después de abrir la tapa es similar al tiempo evaluado previamente con el incubador MINC original.^{4,5} Estos resultados no fueron sorprendentes, teniendo en cuenta que en el incubador MINC+ se utiliza el mismo sistema de calentamiento que en el incubador MINC original.

El segundo estudio se diseñó para evaluar la pérdida de temperatura de una gota de medio en una placa cuando esta permanecía en la superficie del incubador cuando se abría la tapa durante un tiempo previsto necesario para retirar una placa de la incubadora (según lo determinado en este y otros estudios).⁵ Teniendo en cuenta el método tan eficaz de mantenimiento de la temperatura en los incubadores MINC, solo se detectó un efecto muy pequeño de la apertura de la tapa en la temperatura de la gota. En una placa de 35 mm, la temperatura solo se redujo entre 0,1 y 0,2 °C en tiempos de apertura de la tapa de entre 5 y 25 segundos. En el estudio que investigó el mismo efecto en una placa de 60 mm, la pérdida de temperatura fue la misma que en la placa de 35 mm (0,2 °C).

La temperatura es un parámetro fundamental en un sistema de cultivo de embriones. Las fluctuaciones de temperatura pueden afectar negativamente al huso meiótico en ovocitos maduros,⁶ a la cinética de desarrollo y a la calidad y metabolismo del blastocisto.⁷ Estos resultados demuestran el valor del sistema avanzado de control de temperatura empleado tanto en el incubador MINC+, como en el MINC original. Retirar las placas de la cámara del MINC+ para su evaluación tendrá un efecto insignificante en la temperatura de los medios de otras placas que permanezcan en la cámara.

El tercer estudio presenta pruebas adicionales de que el diseño del MINC+ es eficaz en lo que respecta al mantenimiento del entorno de cultivo de embriones durante su uso rutinario. Tras abrir y cerrar la tapa, la concentración de CO₂ volvió a valores próximos al equilibrio en aproximadamente 3 minutos. La cinética de esa recuperación debería reducir las fluctuaciones de pH en el medio de cultivo como consecuencia de la apertura de la tapa.

El mantenimiento del pH del medio es fundamental para el correcto desarrollo del embrión.⁸ Esto puede ser especialmente cierto en los estadios iniciales del desarrollo previo a la implantación, ya que los ovocitos no fertilizados de varias especies de mamíferos carecen de algunos mecanismos de intercambio iónico para regular el pH intracelular,^{9,10} el cual aparentemente no se restablece hasta varias horas después de la fecundación.¹¹ Además, el pH del medio es un parámetro crucial para la fecundación, siendo el pH ligeramente alcalino el óptimo en muchas especies de mamíferos.^{12,13,14} No hay que olvidar que el ión bicarbonato también es un componente esencial en algunos procesos fundamentales, incluida la capacitación espermática,^{12,15,16} y con frecuencia estas variables se confunden en estudios que intentan comprender los efectos de uno u otro parámetro en la fecundación y el cultivo de embriones.⁸ Teniendo en cuenta la importancia del pH como variable en la FIV y en el cultivo de embriones, es de vital importancia utilizar un incubador que mantenga niveles estables de CO₂ y que recupere rápidamente los niveles de CO₂ después de las alteraciones.

Los datos obtenidos con anterioridad sobre el efecto que se produce en el pH del medio al retirar una placa que contenía medio bajo aceite mostraron que pasar de una concentración relativamente alta de CO₂ en el incubador a una concentración muy baja de CO₂ de la atmósfera normal durante 10 minutos tiene un efecto muy pequeño (cambio de pH de 7,33 a 7,37).³ También mostraron que retirar la placa de la incubadora durante 1, 2 o 5 minutos no tenía ningún efecto cuantificable en el pH. Si se va a extraer una placa del MINC+, solo es necesario abrir la cámara durante un tiempo muy breve (del orden de 5 segundos). Durante ese tiempo, la concentración de CO₂ alrededor de la placa caerá rápidamente, pero se restablecerá con relativa rapidez (en solo unos minutos, como se muestra más arriba). En base a los datos de la referencia 3, esto sugiere que abrir la tapa del incubador para extraer una placa no tendrá un efecto cuantificable en el pH del medio de las placas que permanecen en el incubador. Esto, combinado con el hecho de que la temperatura del medio experimenta un cambio muy pequeño con un evento de apertura de la tapa de 5 segundos (del orden de 0,05 a 0,1 °C), sugiere que las aperturas de la cámara tendrán un efecto muy pequeño en las condiciones del medio de cultivo de embriones de las placas que no se retiran de la cámara.

Cook Medical está lanzando una versión actualizada de su incubador de sobremesa, el MINC+. Los datos descritos anteriormente demuestran que el nuevo incubador MINC+ proporciona confianza en el mantenimiento de variables cruciales durante el cultivo de embriones y, por lo tanto, confianza en su utilización en la FIV clínica.

Referencias

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. Incluidas en: 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.

Consulte la información sobre los riesgos del producto en las instrucciones de uso en cookmedical.eu.

Atención al cliente

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