

ESHRE 2014 Munchen

Elke, Mia, Annelies en Ingrid

- sperma: cryopreservatie en IVF
- cultuursystemen en media
- vitrificatie en embryo transfer
- veiligheid in het labo

Chris Barratt Keynote lecture

Screen (n=181) subfertiele mannen toont een associatie tussen Calcium signalering en bevruchtingspotentiaal.

Meer naar sperma kijken: Calcium influx -> hyperactivatie van spermatozoa.

Indien defect -> geen bevruchting

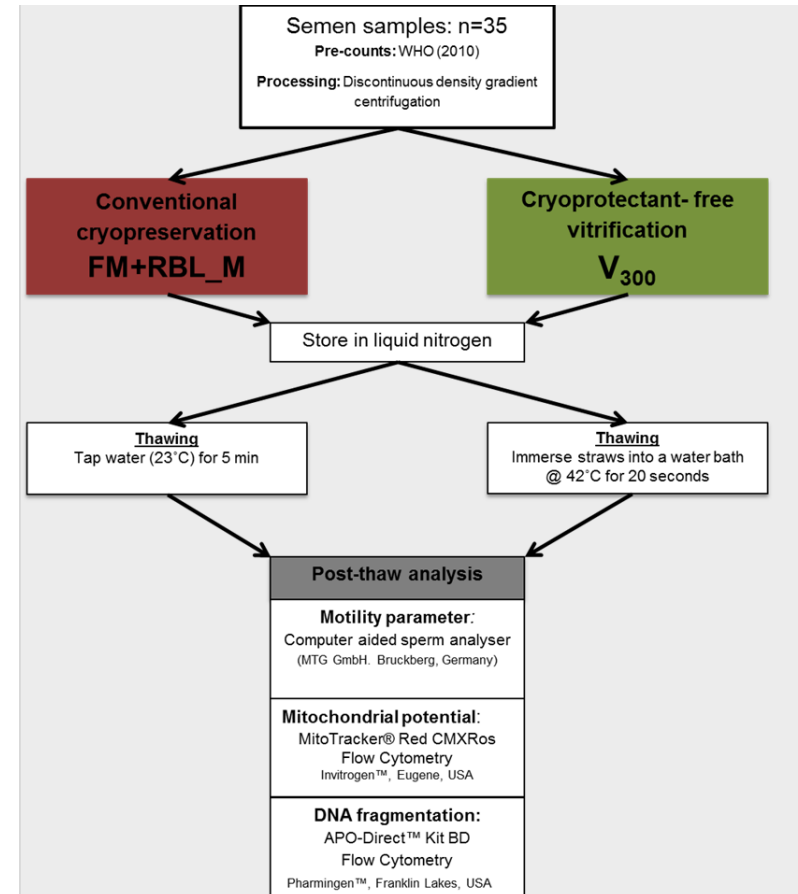
Identificatie van targets (2 kandidaten: Ca₂₊ channels: Slo 1/3 en CatSper) :
medicatie in de toekomst?

[P-010] Cryoprotectant-free vitrification versus conventional cryopreservation: a comparison of freezing methods on post-thaw sperm quality

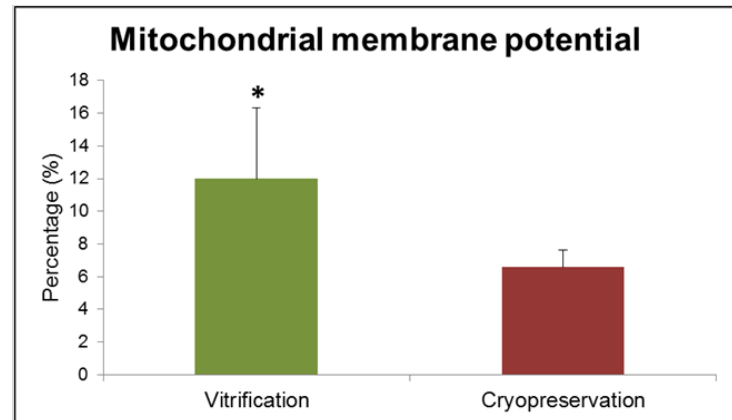
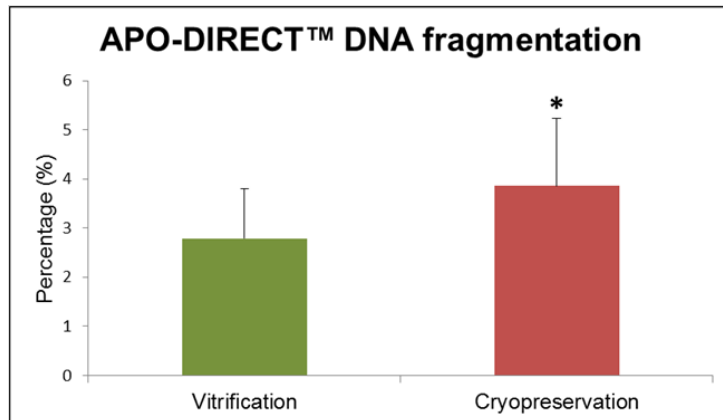
M. Slabbert, C. Huyser, S.S. du Plessis

CRYOPROTECTANT-FREE VITRIFICATION

- Sucrose + 1% albumin (0.5M) was added to washed spermatozoa in 1:1 ratio
- CBS™ straws were filled with 300 µl of the solution and sealed on both ends using an alcohol flame burner
- Straws were submerged into the liquid nitrogen and stored
- To thaw the samples, straws were immersed into a water bath (42°C) for 20 sec.

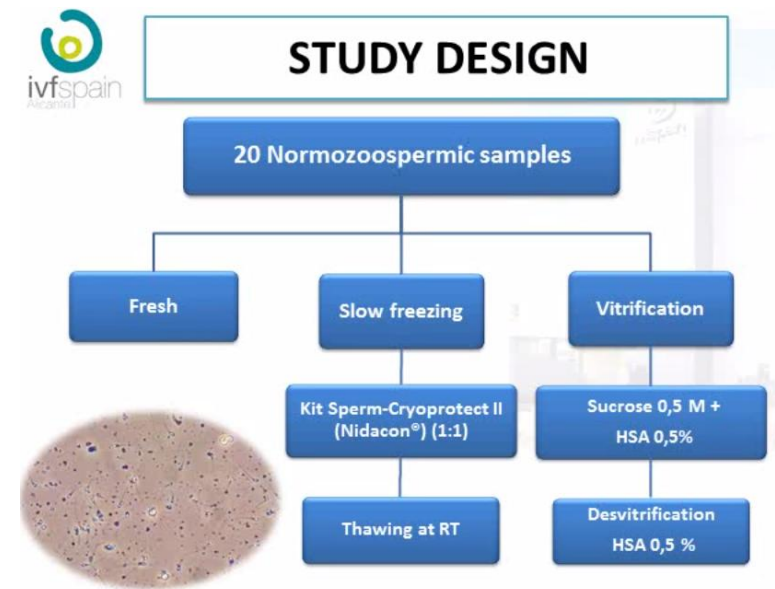


Parameter	Vitrification	Cryopreservation	p-value
	Mean (Standard deviation)		(95% CI)
Rapid Progressive (%)	11.520 (6.099)	12.540 (7.160)	0.423 (-1.477; 3.517)
Total Motility (%)	20.480 (7.399)	23.900 (12.583)	0.181 (-1.588; 8.428)
VCL ($\mu\text{m/s}$)	19.056 (6.469)	20.646 (7.854)	0.339 (-1.667; 4.848)
VSL ($\mu\text{m/s}$)	9.857 (3.698)	10.609 (4.516)	0.343 (-0.804; 2.309)
VAP ($\mu\text{m/s}$)	11.488 (4.075)	12.329 (5.027)	0.385 (-1.054; 2.735)
WOB ($\mu\text{m/s}$)	0.530 (0.072)	0.795 (1.421)	0.349 (-0.289; 0.819)
ALH (μm)	0.503 (0.118)	0.548 (0.140)	0.146 (-0.016; 0.104)



A modified protocol of sperm vitrification shows less cryodamage and enhanced sperm viability than classical slow freezing techniques (Medrano, Spain)

- Doel
 - Slow freezing versus vitrificatie van sperma
- Resultaat
 - Vitrificatie geeft significant betere resultaten voor:
 - Vitaliteit
 - Acrosoom reactie
 - DNA fragmentatie
 - Tubuline verdeling (cytoskelet)



Does body mass index influence sperm parameters in infertile men (Nussbaumer, France)

- Doel
 - Correlatie BMI – semen parameters
- Resultaat
 - Geen significant verschil voor:
 - Motiliteit (CASA)
 - Volume
 - Concentratie
 - Total sperm count
 - Morfologie
 - Progressieve motiliteit sign. lager in groep met ondergewicht

Outcome of ICSI after removal of apoptotic sperm by MACS (Silver, Sweden)

Sperm selection using MACS technology does not improve live-birth delivery rates when ICSI was performed in ovum donation (Romany, IVI Spain)

- Doel
Vgl van ICSI outcome (CPR & LBR) in stalen opgewerkt met MACS en routine (MACS = magnetic activating cell sorting)

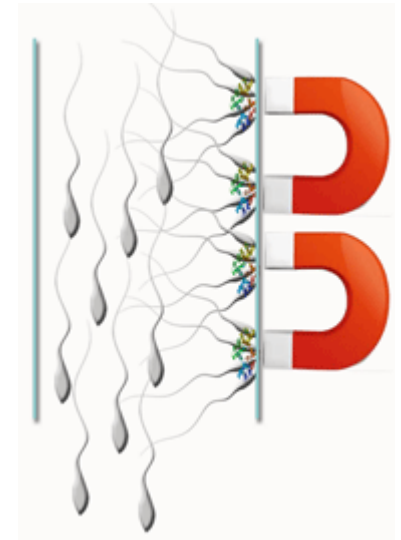
Silver:

A total of 702 oocytes, with 351 in each group

Variable	DGC	DGC + MACS
Injected oocytes	351	351
Fertilized embryos	226	227
Cleaved on day 2	208	205
Number of embryos transfer	45	43
Number of embryos transferred or cryopreserved	59	54
Women receiving embryos from each group	41	41
Women receiving 1 or 2 embryos from the same group *	33	33
Chemical pregnancy*	16	14
Clinical pregnancy*	11	12

*= for these summaries, eight women receiving two embryos from different groups were excluded

Romany:



	MACS	Control	P
N° of oocytes	1337	1322	
Fertilisation rate	75,3%	72,1%	NS
Pregnancy rate	64,2%	71,1%	NS
Live birth rate	48,4%	56,4%	NS

No difference in singleton birth weight according to the type of culture medium and according to the duration of in vitro culture (Verheyen lab, Brussel)

Retrospectieve analyse van alle eenlingen na transfer (dag 3 of 5) in een verse IVF of ICSI cyclus

Cook (n=158) 3259 gram

Medicult (n=1388) 3222 gram

Sage (n=898) 3281 gram

Vitrolife (n=710) 3251 gram

Geen verschil in eenling geboortegewicht tussen de verschillende media

Vitrolife session: David Gardner

Gereduceerde zuurstof: oviduct + uterus: 2-8%

-> betere embryo ontwikkeling bij gereduceerde zuurstof

Glucose uptake: hogere opname voorspelt betere zwangerschapskans

Sequentieel:

- fysiologische samenstelling
- verwijdering van ammonium
- nutriënten zoals *in vivo*
- pipetteren en verwijderen van paracriene factoren

Time-lapse:

- cumulatief voordeel paracriene factoren?
- toxische metabolieten?
- geen shift in pH of temperatuur

Developmental evaluation of human embryos cultured in 2 different systems : Sequential vs single medium (Laura Rienzi Lab, Rome)

Sequentiële cultuurmedia: bootsen *in vivo* situatie na

Single cultuurmedium: 1 medium met alle benodigde componenten

Group A: Sage sequentieel medium

Group B: Irvine scientific single step, geen verversing op dag 3

N = 1255 embryos

Timing van PN , syngamy celdeling 1-7, blastocyst vorming

Blastocyst development: groep A: 41.2% (Shimomura: 46.6%) sibling oocytes!) refresh
groep B: 50.2% (Shimomura: 55.3%)

Groep B snellere vorming 5 cel, 8 cel en morula.

Verschil door minder manipuleren van embryos?

Industrie

- nieuwe modellen desk-top incubatoren in verticale opbouw

CO₂ incubator **INCOivf**

Ideally suited for in vitro fertilisation. Controlled CO₂ and O₂ concentration as well as gentle cultivation in Petri dishes in separate slide-in units.



Memmert contact
+49(0)9122/ 925-0

CO₂ incubator INCOivf classified as medical device for in-vitro fertilization and biosynthesis.

Remarkably Stable and
Reliable Culture Environment.



AR-3100GC

Induced oocyte activation in the lab – principles and practise (Ebner, Mayer lab, Linz)

Geen of zeer lage bevruchting vorige poging (0 – 30%): eicel activatie

Goed onderscheid maken tussen sperma of eicel probleem!

Indien eicel probleem, keuze tussen verschillende soorten eicel activatie:

-Mechanische activatie

Meest actieve mitochondria herplaatsen binnen de eicel bij ICSI, 23,3% gedegeneerd

-Electrische activatie

20 min na icsi 1,5kv/cm 100 microseconden

-Chemische activatie

Calcimycin: dringt nooit in de cel binnen, niet schadelijk

M Montag et al.:

Immediately after ICSI, oocytes were incubated for 15min in a 50- μ l droplet of activation solution (10 μ mol/l calcium ionophore A23187 in culture medium; cleavage medium; Cook) covered by mineral oil (Cook). After exposure to the activation solution, oocytes were thoroughly washed in culture medium and incubated under standard conditions in 6% CO₂, 5% O₂ and 89% N₂ in humidified atmosphere (Minc; Cook).

	Standaard ICSI	Artificial activation
ICSI cycli	47	58
Bevruchting/geïnjecteerde eicel	19.3 (72/373)	44.4 (161/363)
Gem. embryos ET	1.48	1.57
Pos HCG/ ET	14.9 (7/47)	37.3 (19/51) *
Klinisch zwanger/ ET	12.8 (6/47)	31.4 (16/51) *
IR	8.6 (6/70)	17.6 (16/91)
Take home baby/ ET	12.8 (6/47)	27.5 (14/51)

Is time now for single frozen embryo transfer? A retrospective analysis of frozen cycles (Delvigne lab, Rocourt)

Vergelijking van de zwangerschapskans en meerlingzwangerschap na FRET: SET of DET

Slow freeze day 2-3: 56% survival
 SET: 27,8% meerling 3,8%
 DET: 39,3% meerling 9,8%

Vitrificatie blastocyst: 90,5% survival
 SET: 35,0% meerling: 1,5%
 DET: 43,9% meerling: 20,7%

-> SFET voor alle patienten jonger dan 36 waarbij blastocysten gevitriciseerd zijn

Intra-uterine administration of human chorionic gonadotrophin before embryo transfer in recurrent implantation failure patients improves implantation and pregnancy rates in IVF/ICSI cycles (Sing lab, India)

HCG wordt direct na de bevruchting door het embryo vrijgegeven en speelt een belangrijke rol bij implantatie en in het aantrekken van regulatoire T cellen naar het endometrium: toediening verbetert IR en zwangerschapskans?

216 patienten met herhaald implantatie falen, jonger dan 42 jaar, 2006 – 2013

500 IU hcg vlak voor ET (108) of controle groep zonder (108)

Met hcg: IR: 23.2%, PR: 36.8%

Controle: IR: 12.5%, PR: 23.6%

Meest effectief bij vrouwen >40jaar (Egypte)

40 microliter cultuurmedium + 500 IU hcg 10-15 min voor ET

VEGF factor wordt gestimuleerd

Toxicity testing of all decontaminating agents and cleaning products used in human IVF laboratories

16 detergents en decontaminanten getest op VOCs

9 getest in: - human sperm survival test (HSST) – andrologie lab UZ + Eggcentris
> 85% sperm motility na 24-48-72h
- mouse sperm motility assay (SMA)
- mouse embryo assay (MEA)

VOC's gemeten met Mini RAE Voc meter

Producten met alcohol (ether, isopropanol) zeer hoge VOC waarden (350-500ppm)

3/9 geteste producten reduceren sperm motility in beide labo's

SMA idem resultaten als HSST

Fertisafe + Klercide Biocide C toxisch in HSST maar niet in MEA

MEA 1/9 toxiciteit -> sensitiviteit MEA lager dan HSST of SMA

-> sensitiviteit sperma vs embryos is verschillend en daarom is een enkele test voor reprotoxiciteit niet voldoende

Oosafe volledig negatief in alle testen, echter geen sporicide

Labo UZ: woensdagavond Fertisafe ontsmetting na activiteiten

In Dewar stock control and audit: Kustodian

Compatibel met IDEAS

- Electronische tags:
- identificeert container en inhoud
 - leesbaar IN vloeibare stikstof



-Blockthermostat LaboTect voor bij Pick-Up?



Improving decision making in the clinic and laboratory, the importance of non-technical skills (R Flin, Aberdeen)

Ongeluk als gevolg van een tekort in non-technical skills : bv
vliegtuigongeluk door miscommunicatie piloten – luchtverkeersleiding
-> geen tekort aan opleiding of technical skills piloten of verkeersleiders

Non technical skills versus technische opleiding en uitvoering

Communicatie en toetsing worden vaak vergeten

Frame-work voor verschillende beroepen (dokters en piloten)

www.abdn.ac.uk/iprc

Protocols voor labo – dokters – consulenten – secretariaat

Teamoverleg – communicatie – decision making

Beslissingsboom