

# RECOMENDACIONES PARA UN TRABAJO DE EXITO EN LA PRODUCCION DE EMBRIONES IN VITRO (TIPS)

## PAGINA PRINCIPAL IVP

---

Antes de comenzar o de hacer cualquier fase del procedimiento, tomar en consideración estas recomendaciones que se puedan mejorar enormemente los resultados. También, se deberá leer la [guía de uso de instrumentos para manipular CCOs y Embriones](#).

### ❖ El tiempo Empleado Para los Procedimientos

Los tiempos son importantes, Los resultados mejorarán en cuanto mejor se manejen los procesos, más rápidamente y con más calidad en la ejecución de cada paso.

### ❖ El Agua es Importante

La opción de agua depende de la disponibilidad local de agua purificada. Nosotros formulamos las soluciones comunes, usando agua para cultura de tejido celular comprada a [Sigma](#). Para el resto de los medios (OCM, Solución Salina, etc.), utilizamos agua bidestilada o tridestilada, procesada en una filtradora; bi, tridestiladora Milli-Q. Al lavar el equipo, la enjuagada final también se hace con agua bidestilada.

### ❖ El Aceite es Importante

A menudo cuando la producción de embriones in vitro falla, el aceite es el culpable. Los contaminantes solubles y agua presentes en el aceite matan los embriones. El aceite puede ser limpiado, quitando agua o medio, en una cierta clase de coctelera o de mezclador. Nosotros hemos tenido buenos resultados usando aceite mineral probado en embriones, de marca [Sigma](#).

### ❖ Funcionamiento Correcto de las Incubadoras

La humedad de las incubadoras, temperatura, CO<sub>2</sub>, y O<sub>2</sub>, se deben checar y registrar regularmente (es decir observar el depósito del agua dentro de la incubadora que esté lleno y los monitores de CO<sub>2</sub> y O<sub>2</sub>). Las incubadoras responden lentamente a los cambios en los puntos de ajuste, así que es recomendable hacer los ajustes y checar bien, antes de que se utilicen las incubadoras.

### ❖ Solo Utilizar Suplementos Para Producción de Embriones In Vitro

Colocar la cristalería, productos plásticos, y los instrumentos que serán utilizados para IVP, por separado de otros materiales, para prevenir cualquier residuo de otro uso, para no contaminar los medios y no afectar los CCOs y/o los Embriones. Esto se podría hacer fácilmente teniendo un sistema de cristalería diferente que las que se usan regularmente en el laboratorio.

#### ❖ **Mantener el Área de Trabajo a Clima templado para Prevenir Choque Frío**

1. Los respiraderos del aire acondicionado se deben cubrir durante los procedimientos de IVP. Si el cuarto es exclusivo para IVP, los respiraderos del aire acondicionado pueden ser sellados permanentemente.
2. Para calentar el aire se debe utilizar un calentón aire cerca del sitio de trabajo así como superficies donde se colocan los CCOs, Embriones, o se trabaja el semen, frente al microscopio. La colocación de una placa en una superficie fría o el microscopio, podría dar lugar a un choque frío rápido en los embriones. Controlar la temperatura del calentador, o se pueden quemar los embriones, Espermias, etc.
3. Antes de observar los embriones al microscopio, cerciorarse de que se ha precalentado la superficie donde será colocada la placa conteniéndolos (dando vuelta a el calentador de aire). El metal es un excelente conductor de frío a partir de un material a otro.
4. Cuando los CCOs se lavan, los vasos volumétricos, contenedores, tubos de plástico, placas, etc. No se deberán colocar en una superficie fría.
5. Colocar siempre las placas (es decir platos, X-placas de Petri, etc.) en una platina térmica pre-calentada a 39°C.

#### ❖ **Medios Pre-Calentados a 38.5°C**

**A)** Los medios se deben pre-calentar por lo menos 2 a 3 horas antes de ser utilizados, en un horno, incubadora, o baño de agua (baño maría) a 38.5°C. Cerciorándose de que la tapa esté apretada. Los medios que se precalentarán de este modo incluyen **Solución Salina, Hepes-TALP, SP-TALP y Medio de Colección de CCOs.**

**B)** Incubadora los medios formulados para ser usados en incubadora, a 38.5° C y 5% CO<sub>2</sub> deben pre-calentarse en la misma con la oportunidad requerida. Para que se conserve el pH del medio que se equilibrará, es importante aflojar la tapa de cualquier botella/tubo de medio colocado en la incubadora. No dejar un recipiente de medio protegido para un ambiente específico de CO<sub>2</sub>, demasiado tiempo en la incubadora, se provocaría un cambio dramático del pH que podría afectar seriamente viabilidad y desarrollo embrionario. Los medios que se deben

pre-calentar en una incubadora incluyen **OMM, IVF-TALP, Percoll, CR1aa, KSOM y SOF.**

### ❖ Esterilidad y limpieza

1. Toda la cristalería, productos plásticos y medios usados deben estar estériles.
2. Utilizar las técnicas estériles al manejar medios.
3. Al limpiar la Cámara de Flujo Laminar, utilizar un limpiador comercial (utilizamos Windex sin amoníaco) para quitar la sangre y otros materiales de la superficie, para finalizar la limpieza siempre se empapan las superficies con etanol al 70% y se seca con un trapo o un kimwipe, el etanol es tóxico a los embriones tenga cuidado donde lo aplica.
4. En nuestra experiencia, la unidad descongeladora de semen puede ser una fuente de microorganismos dañinos. Se debe Lavar y secar siempre después de cada uso. Periódicamente desinfectar su interior con cloro, es una buena técnica.

### ❖ OTROS TIPS

1. Las pipetas puede contener toxinas u otras sustancias que pudieran inhibir el desarrollo de embriones. Como precaución, siempre revise las extremidades de las pipetas antes de usar, especialmente antes de agregar medio nuevo o embriones a una microgota.
2. Al transferir CCOs o Embriones de un medio a otro, transferirlos con el menor medio que sea posible.
3. Debido a la continua apertura de la puerta de la incubadora, la temperatura al frente de ella fluctúa. Así que, será mejor colocar las placas en su parte posterior reducir la exposición a los cambios bruscos de temperatura.

---

El material original de esta página web pertenece © Rocio Rivera, [Peter J. Hansen](#) et al. 2000-2002, traducción Mayo 2007 por Luis A. Dávila F. Las ligas a los sitios comerciales no constituyen el endoso de los Autores o la Universidad de Florida.

