

IVF (In Vitro Fertilizasyon) Uygulamalarında Embriyoloji Laboratuvarının Önemi

IMPORTANCE OF EMBRYOLOGY LABORATORIES IN IVF (IN VITRO FERTILIZATION) PRACTICE

Meltem ÖZGÜNER*, Handan KARA**, Oya EVİRGEN***

* Yrd.Doç.Dr., Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji- Embriyoloji AD, ISPARTA

** Uz.Dr., Dr.Zekai Tahir Burak Kadın Sağlığı Eğitim ve Araştırma Hastanesi IVF Kliniği,

*** Uz.Dr.,Ankara Üniversitesi, Tıp Fakültesi Histoloji- Embriyoloji AD, ANKARA

Özet

IVF (In Vitro Fertilizasyon) Kliniklerinin kuruluşundan itibaren Kadın Doğum Ünitesi ile birlikte Klinik Embriyoloji Laboratuvarları da önem kazanmıştır. Embriyoloji laboratuvarında IVF tekniklerinin doğru ve uygun şekilde uygulanması embriyologların sorumluluğu altındadır.

Embriyoloji laboratuvarlarında işlemlerin başarısının yanı sıra, kalite kontrol ve güvenlik sistemlerinin işlerliği de öncelikle tüm laboratuvar çalışanlarının katılımı ve birbirleri ile uyumuna bağlıdır.

İnfertilite klinikleri, kolektif çalışmayı gerektiren ünitelerdir. IVF laboratuvarlarının başarısı insan faktörü ile direkt ilişkilidir. İleride de gerek gebelik sonuçları, gerekse bilimsel açıdan başarıyı yakalayacak olan laboratuvarlar, eğitilmiş ve deneyimli insanlarla ekip çalışmasını başarabilen laboratuvarlar olacaktır.

Embriyoloji laboratuvarında çalışan personel ve idare, laboratuvar kayıtları, laboratuvar güvenliği ve hasta kimlik bilgileri konularında gerekli olan asgari gereksinimleri içeren yol gösterici bilgiler değerlendirildi.

Anahtar Kelimeler: IVF, Embriyoloji laboratuvarı, İdare

Summary

The necessity of embryology laboratories increased in association with gynecology units since IVF (In Vitro Fertilization) clinics have been established. The embryologist is responsible for the correct and justified application of IVF Techniques in these laboratories.

The implementation of a quality control system beside the success of procedures in embryology laboratories mostly depends on every employee's participation and cooperation.

Infertility clinics offer collaboration between staff. The success of IVF laboratories directly affected by employees. In the future, the IVF laboratories which will provide successful pregnancy outcome and scientific improvement will be the one's working with well trained and experienced staff.

The minimal requirements for any IVF laboratory which includes staffing and direction, laboratory procedures, laboratory safety and identification of patients have been evaluated.

Key Words: IVF, Embryology laboratory, Staffing

T Klin Tıp Bilimleri 2002, 22:612-615

IVF (In Vitro Fertilizasyon) Kliniklerinin kuruluşundan itibaren Kadın-Doğum Ünitesi ile birlikte Embriyoloji Laboratuvarları da önem kazanmıştır. Günümüzde embriyoloji laboratuvarları infertilite merkezlerinin odak noktası ve vazgeçilmez unsuru haline gelmiştir (1). Her ne kadar hasta seçiminde ve yönlendirilmesinde kadın doğum uzmanları başlıca sorumluluğu ve görevi üstlense de, IVF sonuçlarının başarısı için embriyoloji laboratuvarlarının önemi göz ardı edilemez bir gerçek halini almıştır. Embriyoloji laboratuvarlarında IVF tekniklerinin doğru ve uygun şekilde uygulanması embriyologların sorumluluğu altındadır (1).

Bu makalede Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi IVF Ünitesi ve Zekai Tahir Burak Kadın Sağlığı Eğitim ve Araştırma Hastanesi IVF Ünitesi embriyoloji laboratuvarında kazanılan deneyimlerin değerlendirilmesi amaçlandı.

Ayrıca her yıl düzenlenen ESHRE (European Society of Human Reproduction and Embryology = Avrupa İnsan Üreme ve Embriyoloji Topluluğu) 'nin 5 yılda bir oluşturduğu Embriyoloji ile özel ilgilenen grup adı altında toplanan ve bu konuda en deneyimli kişilerden oluşan komitenin öneri ve kararları özetlendi. Bu kararlar embriyoloji laboratuvarlarının düzenli ve etkili

T Klin J Med Sci 2002, 22:612-615

işleyebilmesi için gerekli olan asgari gereksinimleri içeren yol gösterici bilgileri içermektedir (1).

Embriyoloji laboratuvarlarında işlemlerin başarısının yanı sıra kalite kontrol ve güvenlik sistemlerinin işlerliği de öncelikle tüm laboratuvar çalışanlarının katılımı ve birbirleri ile uyumuna bağlıdır.

Laboratuvar Personeli ve İdare

Bu konuda embriyoloji özel ilgi grubunun önerileri ve deneyimlerimiz bizleri aşağıdaki noktalarda birleştirdi.

1) Embriyoloji (IVF) laboratuvarı eğitilmiş ve deneyimli, basit ve tekrarlanabilir bir tarifi, teknik olarak izleyen kişi olarak yerine göre yaptıklarını anlayabilen, analiz edebilen ve sorgulayabilen bir bilim adamı veya tıp doktoru sorumluluğunda ulusal yasalara göre idare edilmelidir (1).

2) IVF laboratuvarında günlük hasta potansiyelini ve işlem yükünü karşılayabilecek yeterli ve deneyimli sayıda çalışan bulunmalıdır.

3) Laboratuvara yeni katılan personele yoğun bir uyum programı verilmeli ve sürekli tıp eğitimi (STE) tüm personele tavsiye edilmelidir (1,2).

*Laboratuvarda çalışan herkesin ayrı ayrı bireysel sorumlulukları bulunmalı ve herkesin sorumluluk sınırları

net bir şekilde yazılı prosedür şeklinde belirtilmelidir.

Laboratuvar Kayıtları

İnfertil çiftlerin güvenini kazanmak ve laboratuvarın güvenilirliğini kanıtlamak için laboratuvar kayıt sistemi son derece önemlidir. Hasta kayıtları ve ayrıca cihaz ve malzeme kayıtları titizlikle tutulmalıdır (1-3).

1) Tüm laboratuvar kayıtları hastaların bireysel kimliklerini kaybetmeyecek şekilde, hastanın kişisel sırlarını saklama koşulu dikkate alınarak düzenlenmelidir.

2) Laboratuvar sonuçları tarih, hasta onayı ve hasta kimlik bilgilerini mutlaka içermelidir.

3) Laboratuvar sonuçlarının klinikle ilişkili ve en doğru biçimde değerlendirilebilmesi için kayıtlar mümkün olduğunca geniş kapsamlı tutulmalıdır.

4) Laboratuvarda kullanılan bütün malzeme ve cihazların kalibrasyonu ve kalite kontrolü düzenli aralıklarla yapılmalıdır.

5) Süreli malzemelerin düzenli temini için yazılı, imzalı ve tarihli bir protokol olmalıdır.

6) Tüm kayıtlar laboratuvarda bulunan ve sorumlu kişilerin kolayca ulaşabileceği bir kayıt defterinde toplanmalıdır. Bu kayıtların ışığı altında fertilizasyon, implantasyon, klinik gebelik oran başarılarıyla ilgili sonuçlar belirli aralıklarla incelenerek başarı oranları kontrol edilmelidir. Böylece embriyoloji laboratuvarının kalite kontrolü ve uygulanan tekniklerin standart bir biçimde uygulanıp uygulanmadığı belirlenebilir (1,2,4,5).

Laboratuvar Güvenliği

Laboratuvar güvenliği başlığı altında laboratuvarın düzeni, cihazlar ve solüsyonlar açısından öncelikle dikkat edilmesi gereken noktalar, çiftlerin ve laboratuvar çalışanlarının sağlık güvenliği için alınması gereken tedbirler kısaca özetlendi.

Laboratuvar Düzeni

Embriyoloji laboratuvarı, IVF Ünitesinin en sessiz ve ulaşım açısından en uzak yerinde olmalı ve personelin rahat çalışabileceği şekilde düzenlenmelidir (3).

1) Embriyoloji laboratuvarı, gametler ve embriyolar için gerekli olan optimal ve aseptik koşulları sağlamalıdır (1).

2) Laboratuvar güvenliği için inkübatörler, santrifüj cihazları ve kriyo ekipmanları laboratuvar içerisinde en uygun çalışma alanlarına yerleştirilmelidir.

3) Kayıt saklama, veri girişi gibi yazılı işlemler için ayrı bir çalışma alanı sağlanmalıdır.

4) Alet yıkamak, sterilizasyon vb... gibi işlemlerin yapılabileceği bu amaç için özel düzenlenmiş ve laboratuvarın dışında bir bölüm olmalıdır.

Laboratuvarda tezgah yüksekliği, uygun sandalyeler,

uygun mikroskop oküler yüksekliği, yeterli havalandırma ve/veya gün ışığı, alanın ve yüzeylerin faydalı kullanımı çalışan kişilerin dalgınlık ve yorgunluğunu en aza indirebilmek açısından önemlidir (1).

Öncelikle laboratuvar çalışanlarının sağlık ve güvenlik ihtiyaçları dikkate alınmalı ve sağlanmalıdır.

Laboratuvar Cihazları

Laboratuvarda kullanılan cihazlar laboratuvar işlemleri için uygun olmalı, temizlenmesi ve dezenfeksiyonu kolay olmalıdır (1-3).

1) Kritik öneme sahip cihazlar, örneğin; inkübatörler ve kriyo cihazları uygun şekilde alarmlı ve monitörize olmalıdır.

2) Embriyoloji laboratuvarında meydana gelebilecek güç azalmaları veya elektrik kesintileri için mutlaka kesintisiz bir güç kaynağı (UPS) ve jeneratör bulunmalıdır.

3) Embriyoloji laboratuvarında en az 2 inkübatör bulunmalıdır.

4) İnkübatörler belirli aralıklarla uygun biçimde, uygun ajanlarla temizlenmeli ve sterilize edilmelidir. Kriyo amacıyla kullanılan sıvı azot tankları yılda bir kez temizlenmeli ve sanitize edilmelidir.

5) Tüm kültür ortamlarının % 98'i sudur. Embriyoloji laboratuvarında kültür ortamlarının hazırlanmasında kullanılacak suyun kalitesi çok önemlidir. Günümüzde üç kere distile edildikten sonra deiyonize edilen ve filtrasyonla sterilize edilen ultra saf su kullanılmaktadır (3). Bu nedenle embriyoloji laboratuvarında ultra saf su cihazı bulunmalıdır ve düzenli aralıklarla bu cihazın bakımı yapılmalıdır (1-3).

Laboratuvar Solüsyonları

İnsan oosit, spermatozoon ve embriyolarının kültürü için kullanılacak ticari olarak üretilmiş kültür solüsyonlarının uygunluğunun üretici firmalar tarafından garanti edilmesi gerekmektedir (1,3).

1) Ticari solüsyonların hücre kültür ortamına özgü fiziksel ve kimyasal özellikleri pH, ısı, viskozite, içerdiği glikoz miktarı, içerdiği amino asitler şeklinde mutlaka belirtilmiş olmalıdır.

2) Ticari solüsyonların bakteriyel endotoksin testi, pirojen testi, sitotoksikite testi ve membran filtrasyonu gibi biyolojik testlerden geçmiş olması gerekmektedir (1,6).

3) Laboratuvar işlemleri sırasında kullanılan kimyasalların şu fonksiyonel testlerden geçmiş olması gerekir.

a- Oosit ve embriyo kültür solüsyonlarına; bir-iki hücreli fare embriyo testi, insan spermatozoon canlılık testi,

b- Hyaluronidaz enzimi için; kumulusları ayrıştırma testi,

c- Zona drilling için kullanılan asit tyrode

solüsyonuna; zona pellusida disseksiyon testi,

d- Sperm için kullanılan hücre kültür solüsyonlarına; insan spermatozoon ayırıştırma testi,

e- PVP 'ye; ICSI için motil spermatozoon ayırıştırma testi uygulanmış olmalıdır.

4) Üretici firmalar ayrıca kimyasalların ve hücre kültür solüsyonlarının soğuk zincir halkasına uyularak uygun koşullarda ve düzenli biçimde embriyoloji laboratuvarlarına ulaştırılmasını temin etmelidir. Bu amaçla üretici firma ile yazılı, tarihli ve imzalı bir protokolün imzalanması en uygun yöntemdir.

Laboratuvarda Enfeksiyon Kontrolü

IVF laboratuvarlarında biyolojik materyal ile çalışıldığı için bulaşıcı hastalıkların personele geçişi açısından her zaman potansiyel bir tehlike vardır (1).

Laboratuvarda ulusal yasalar da göz önüne alınarak, laboratuvar personelinin sağlık güvenliği için gerekli önlemler alınmalıdır (1). Bu nedenle;

1) Personelin hepatit B veya olabilecek diğer viral hastalıklara karşı aşılınması önerilmektedir.

2) Hastaların ve gamet donörlerinin HIV, hepatit B/C ve diğer cinsel yolla bulaşan hastalıklar açısından tedavi öncesi veya gamet/embriyo kriyoprezervasyonundan önce taranması rutin bir uygulama olmalıdır.

Hastaların IVF tedavi siklusuna kabul edilmesi klinisyenler tarafından yönlendirilse de enfeksiyon taşıyabilme potansiyeli olan hastalar konusunda laboratuvar çalışanları mutlaka bilgilendirilmeli ve önlem almalarına olanak verilmelidir.

3) Eşlerden biri veya her ikisi de HIV-pozitif ise IVF ve embriyo transferi uygulanmamalıdır. HIV-1 viral partiküllerin motil spermin sitoplazmasında bulunabileceği gösterilmiştir (7). Fertilizasyon, gerek konvansiyonel IVF gerekse ICSI sonucu gerçekleşmiş olsun viral partiküllerin oosit sitoplazmasına girebilme olasılığı mevcuttur (1).

4) Erkek eş, hepatit B virüsü ile enfekte ise seronegatif kadın eş IVF'ten önce aşılmalıdır.

5) Kadın eş hepatit B virüsü ile enfekte ise IVF uygulanabilir fakat çift doğacak bebeğin hemen aşılınması konusunda uyarılmalıdır. Son zamanlarda, hepatit B pozitif hastalarda ICSI uygulanması sırasında muhtemelen çevre sıvılardan sperm zarına yapışan virüslerin oosit içine taşınabilme riskinin artabileceği belirtilmektedir.

6) Eşlerden herhangi birisi hepatit C virüsü ile enfekte ise yoğun bir konsültasyondan sonra IVF uygulanabilir.

7) Sifilis seropozitivitesi durumunda IVF uygulanmadan önce uygun tedavi verilmelidir.

Laboratuvarda koruyucu önlemler

Laboratuvarda koruyucu önlemlerin amacı, personel güvenliğinin yanı sıra gamet ve embriyolar için de aseptik koşulların sağlanması olmalıdır (1,2). Bu amaçla alınacak tedbirler aşağıda belirttiğimiz önerileri içermeli fakat bunlarla sınırlı kalmamalıdır.

1) Laboratuvar için uygun ve özel giysiler giyilmesi (1),

2) Saçların mutlaka bone veya keple kapatılması (2),

3) Embriyolar için toksik olmayan steril pudrasız eldivenler ve maskelerin kullanılması,

4) Eğer kriyo materyaline dokunulacak ise uygun göz ve yüz maskelerinin kullanılması,

5) Mümkünse vertikal laminar-flow kabinlerinin kullanılması (1),

6) Mekanik pipetörlerin kullanılması,

7) Enfekte olma riski olan malzemenin dezenfeksiyonu ve sterilizasyonu,

8) Dispozıbl malzeme kullanımından sonra bu malzemenin uygun çöp kutularına bekletilmeden atılması ve en kısa sürede imha edilmesi (1,2,3).

Enfekte olma riski taşıyan malzemenin, laboratuvar çalışanlarını, bakım yapan personeli, servis çalışanlarını ve temizlik personelinin sağlık açısından tehdit ettiği asla akıldan çıkarılmamalıdır,

9) İğne ve benzeri kesici aletlerin dikkatli kullanılması ve özel çöp kutularına atılması (1),

10) Mümkünse cam malzemenin laboratuvara dahil edilmemesi varsa da Pasteur pipetleri ve kırılmış cam malzemenin uygun ve farklı kutulara atılması önerilir (1).

Kriyoprezervasyon işlemi sırasında, semen veya embriyonun içine konulduğu kaplar içinde semen ve embriyoların bulunduğu hasta sıvıları ile temas ettikleri için eğer bu kaplar eksternal dezenfeksiyon yapılmaksızın sıvı azot tanklarının içine alınırlarsa enfeksiyon etkenleri bir hastadan diğerine cross-kontaminasyon yolu ile geçebilmektedir (8). Güvenli kriyo strawları bu ihtiyacı karşılamak amacıyla tasarlanmıştır. Kontamine olduğu bilinen örnekler, buna benzer yüksek güvenliğe sahip kaplarda saklanmalıdır (1).

Hasta Kimlik Bilgilerinin Önemi

IVF teknikleri uygulanırken işlemleri çeşitli basamaklarında kimlik kontrolünü içeren yazılı bir laboratuvar prosedürü olmalıdır (1,2). Hasta kimlik bilgilerinin doğruluğu her basamakta mutlaka bir kez, kritik basamaklarda ise gerektiğinde çift kontrolle test edilmelidir. Tüm laboratuvar personelinin de yapılması gereken bu kontroller konusunda titiz ve duyarlı davranması sağlanmalıdır. Bu amaçla personelin eğitimi şarttır.

Amaç, her zaman daha iyiye yönelmek, başarıyı

yakalamak ve devam ettirmekse tutulacak kayıtların yol göstericiliği yadsınamaz (3).

1) Hastalardan elde edilen materyallerin (ör: kan, follikül sıvısı ve sperm içeren tüpler) üzerinde sadece ait olduğu çiftin bilgilerini içeren etiket mutlaka bulunmalıdır (1).

2) IVF tedavisine kabul edilen çiftten erkeğe ait semen mutlaka embriyoloji laboratuvarının bir bölümünde uygun şekilde hazırlanmış sperm verme odasında OPU işleminin yapılacağı gün vermelidir. Semen örneği mutlaka bizzat hastanın kendisinden laboratuvar personelinden birisi tarafından elden, üzerinde hasta çiftin adının yazılı olduğu etiket kontrol edilerek alınmalıdır.

3) İnkübatörler, embriyoların, oositlerin ve spermilerin kimlik tespitini kolaylaştıracak şekilde düzenlenmelidir (1).

4) Kritik basamaklarda; oosit toplama işleminden, semen alınırken ve embriyo transfer işlemlerinde hasta kimlik bilgilerinin doğruluğu çift kontrolle mutlaka onaylanmalıdır (1).

5) Embriyoloji laboratuvarında teknik koşullar ve personel yetersizse, karışıklıklar ve trajedik sonuçlara sebebiyet vermemek için aynı anda laboratuvarın karşılayacağı yükün üstünde çok sayıda hastanın materyali (gamet hücreleri) bulundurulmamalı ve işleme tabii tutulmamalıdır.

Her hastanın dosyasında tüm kritik basamakların detaylı bilgisi bulunmalıdır. (ör: transfer günü, saati, işlemi yapan doktor, embriyolog, hemşire adı gibi...)

Embriyo transferi sonrası embriyoloji laboratuvarı sorumlusu tarafından gametler ve embriyolarla ilgili tüm aktarılabılır, görüntüler ve sonuçlar uygulamayı yaptıran çiftte basit, yeterli ve anlaşılabilir şekilde açıklanmalıdır.

Sonuç

1978 yılında İngiltere’de ilk tüp bebeğin doğumundan bu yana IVF teknikleri tüm dünyada birçok merkezde giderek yaygınlaşan bir uygulama alanı bulmuştur (2,9,10).

Türkiye’de IVF tedavi yöntemlerinin uygulandığı çok sayıda merkez açılmıştır. 2000 yılı itibariyle Türkiye ‘de 10 tanesi Üniversite hastaneleri, 1 tanesi Sağlık Bakanlığı hastanesi, 19 tanesi de özel sağlık kuruluşu olmak üzere 30 adet IVF merkezi bulunmaktadır. Bu nedenle Sağlık Bakanlığı Üremeye Yardımcı Teknik Yöntemleri Bilim Kurulu oluşturuldu. Bu merkezlerin alt yapısı, çalışacak personelin özellikleri değerlendirildikten sonra uygun bulunanlar Sağlık Bakanlığı tarafından ruhsatname verilerek hizmet vermek üzere faaliyete geçebilmektedir.

Bilim Kurulu aynı zamanda bu merkezlerin denetlenmesi, değerlendirilmesi ve değişiklikleri ile ilgili tavsiye kararlarını alır. Bu noktada Bilim Kurulunun embriyoloji laboratuvarı altyapı, cihaz ve teknik koşullarını

değerlendirme ve burada çalışacak personelin Biyolojik Bilimlerde yeterli ve Sağlık Bakanlığının onayladığı kişiler arasından seçilmesi konusunda çok önemli bir rolü vardır.

Günümüzde dünyada ve ülkemizde IVF laboratuvarlarında çalışan personelin yeterli ve uygun eğitimi giderek önem kazanmaktadır. IVF laboratuvarlarında çalışmak belirli bir bilgi, beceri, deneyim ve titizlik gerektirir. Laboratuvarında çalışan kişilerin eğitimle birlikte sorumluluk duygularının da gelişmiş olması beklenmektedir. Aynı zamanda tıp mesleğinin öngördüğü etik kurallara IVF laboratuvarı gibi etik sorun potansiyeli yüksek çalışma alanında mutlaka uyulmalıdır.

İnfertilite klinikleri kolektif çalışmayı gerektiren ünitelerdir. Bu nedenle IVF laboratuvarında çalışan kişilerin ister idareci düzeyinde olsun, ister çalışan düzeyinde olsun kişilik ve eğitim açısından kolektif çalışmaya uygun, katılımcı ve paylaşımcı olması gerekir.

Bu bakış açısı ile görülebileceği gibi IVF laboratuvarlarının başarısı, insan faktörü ile direkt ilişkilidir. İleride de gerek gebelik sonuçları gerekse bilimsel açıdan başarıyı yakalayacak olan laboratuvarlar eğitilmiş ve deneyimli insanlarla ekip çalışmasını başarabilen laboratuvarlar olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Gianaroli L, Plachot M, Van kooij R, Al-Hasani S, Dawson K, DeVos A, Magli MC, Mandelbaum J, Selva J, Van Inzen WESHRE guidelines for good practice in IVF laboratories.Hum. Reprod. 2000; 10: 2241-6.
2. Jenkins JM. Medical informatics in assisted reproduction. In : Brinsden PR, ed. A text book of In Vitro Fertilization and Assisted Reproduction. Cambridge: The Parthenon Publishing group. 1999: 369-383
3. Delilbaşı L. Tüp bebek-Yardımcı Üreme Tekniklerinde Laboratuvar Yöntemleri. Birinci baskı, Baysev yayınları, Yayın no: 10, Ankara,1997: 15-40.
4. Keay SD, Rennie A, Liversedge NH, et al. Reliability of IVF databases-suggestions for improvement. J Br Fertil Soc. 1996; 1: 14B, Hum Reprod 1996; 11 (suppl):7.
5. Black N. Developing high quality clinical databases. Br Med J 1997; 315:381-2.
6. Fishel S, Jackson P, Webster J, Faratier B. Endotoxins in culture medium for human in vitro fertilization. Fertil Steril 1988; 49(1): 108-11.
7. Baccetti B, Benedetto A, Burrini AG, et al. HIV-particles in spermatozoa of patients with AIDS and their transfer into oocyte. J. Cell. Biol.1994; 127: 903-14.
8. Tedder RS, Zuckerman MA, Goldstone AH, et al. Hepatitis B transmission from contaminated cryopreservation tank. Lancet,1995; 346: 137-9.
9. Silber SJ. Intracytoplasmic sperm injection today: a personal review. Hum Reprod 1998; 13 (suppl): 208-19.
10. Mortimer D. Practical Laboratory Andrology. New York: Oxford University Press, 1994; 3-11.

Geliş Tarihi: 04.03.2002

Yazışma Adresi: Dr.Meltem ÖZGÜNER
Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi
Histoloji- Embriyoloji AD, İSPARTA
mozguner@hotmail.com