

Organizacja i wyposażenie pracowni ART

Dr Ricardo Faúndez

Centrum Badań Biomedycznych SGGW

InviMed Europejskie Centrum Macierzyństwa

Chapter 9: Quality management in the IVF laboratory

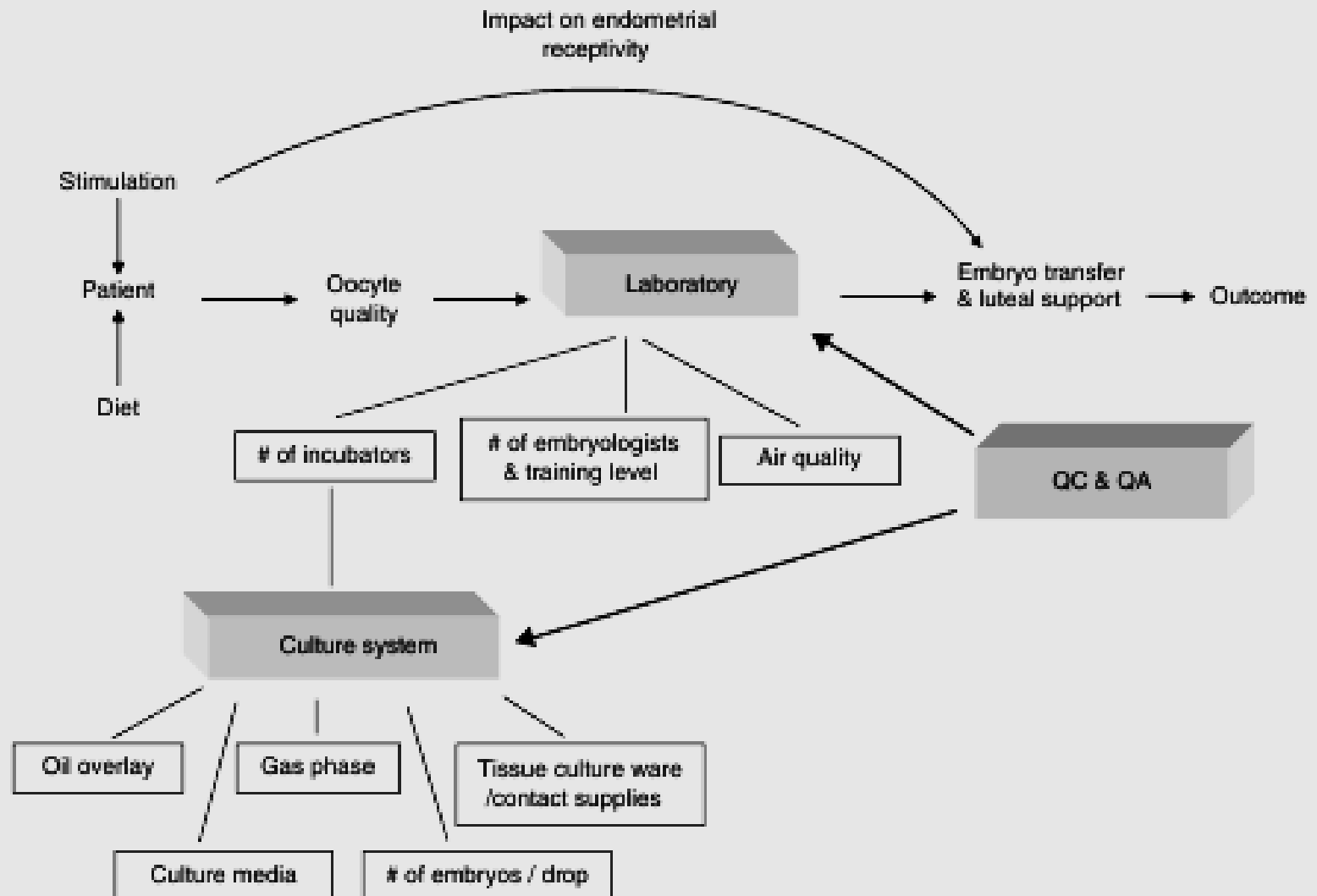


Figure 9.1 Critical elements of an ART treatment cycle (with thanks to David Gardner, Melbourne, Australia).

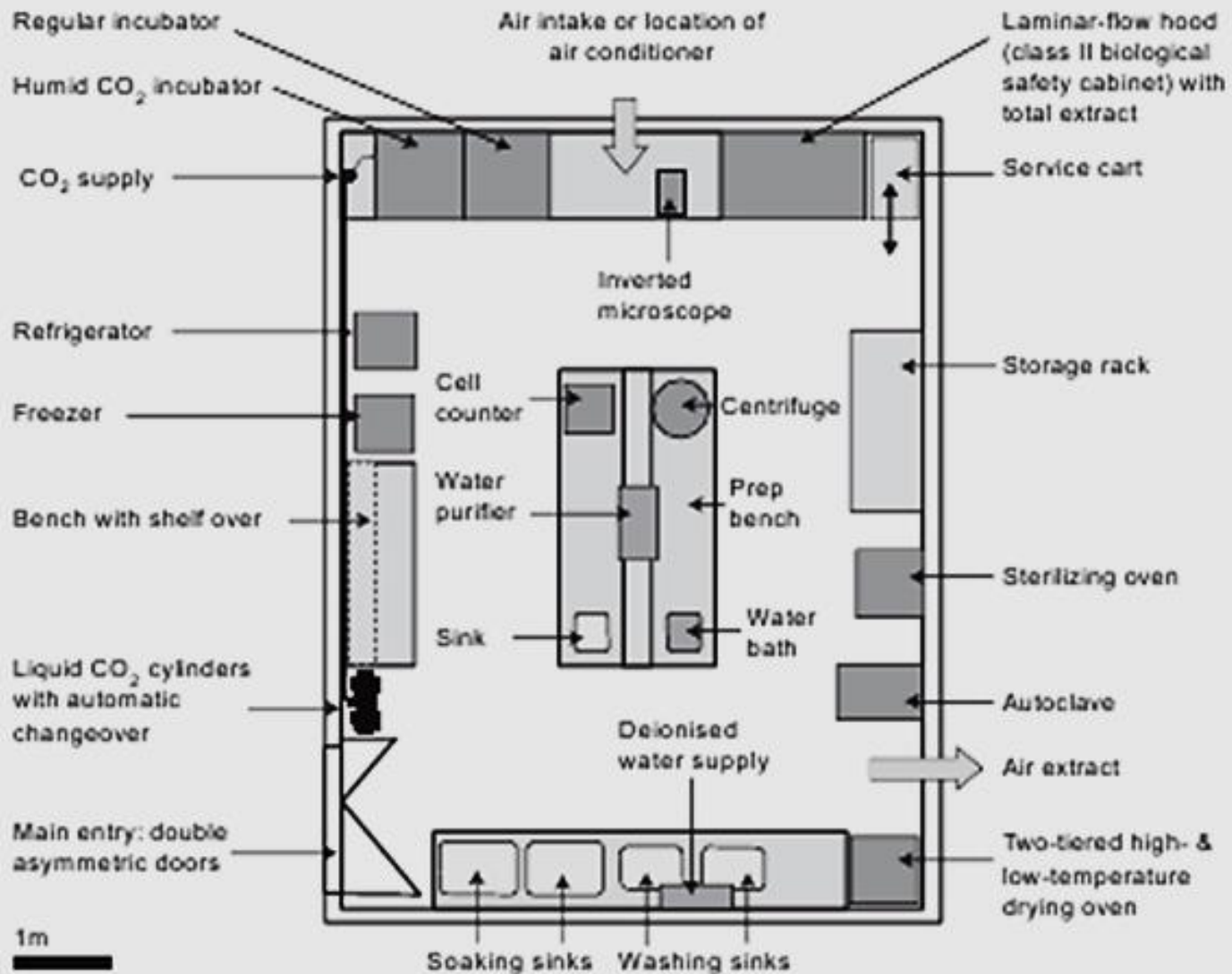


Fig. 4.1. Small Tissue Culture Laboratory. Suggested layout for simple, self-contained tissue culture laboratory for use by two or three persons. Dark-shaded areas represent movable equipment, lighter-shaded areas fixed or movable furniture. Scale 1:100.

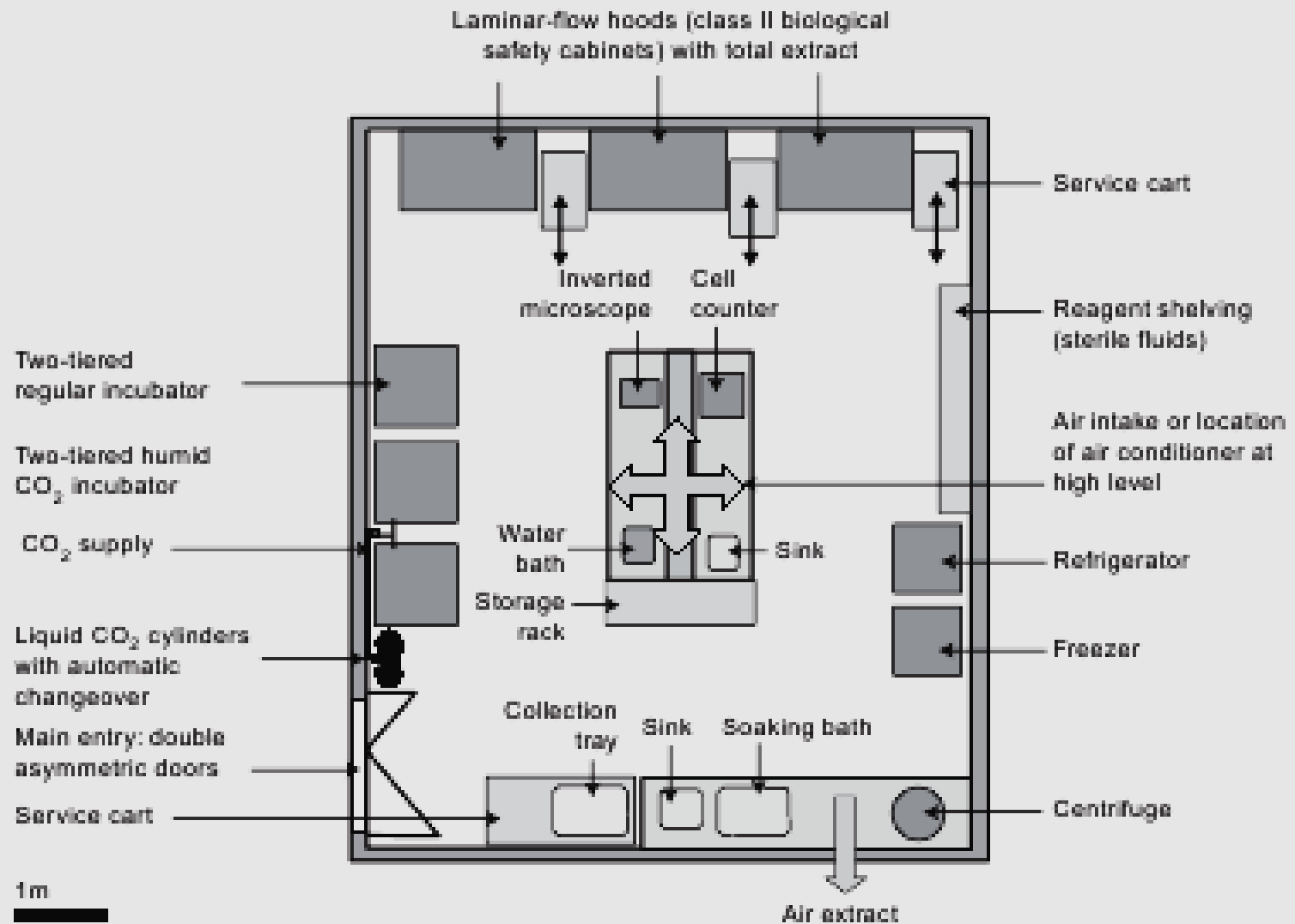


Fig. 4.2. Medium-Sized Tissue Culture Laboratory. Suitable for five or six persons, with washing up and preparation facility located elsewhere. Dark-shaded areas represent movable equipment, light-shaded areas movable or fixed furniture. Scale 1:100.

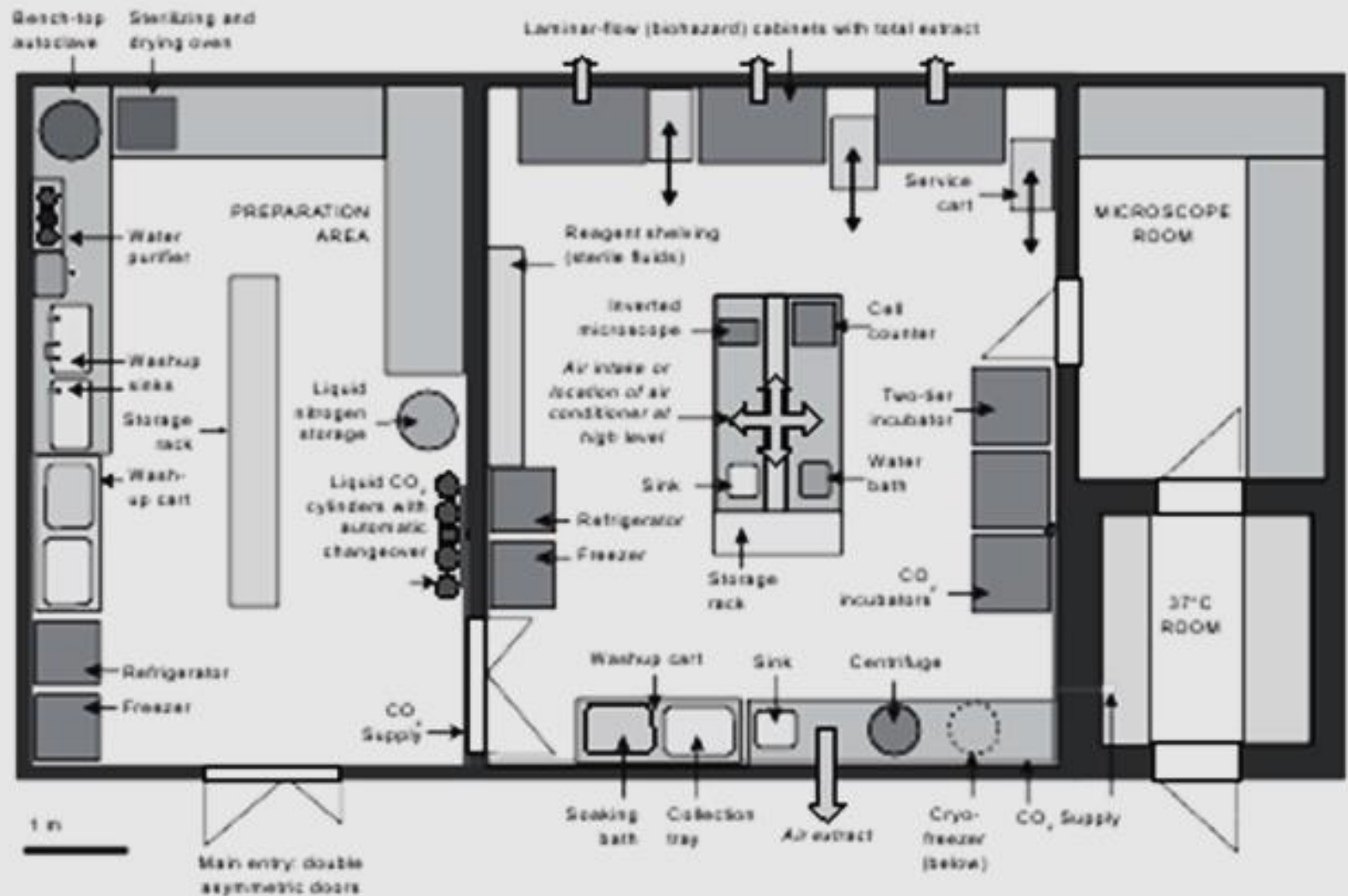


Fig. 4.3. Tissue Culture Lab with Adjacent Prep Room. Medium-sized tissue culture lab (see Fig. 4.2), but with attached preparation area, microscope room, and 37°C room. Scale 1:100.

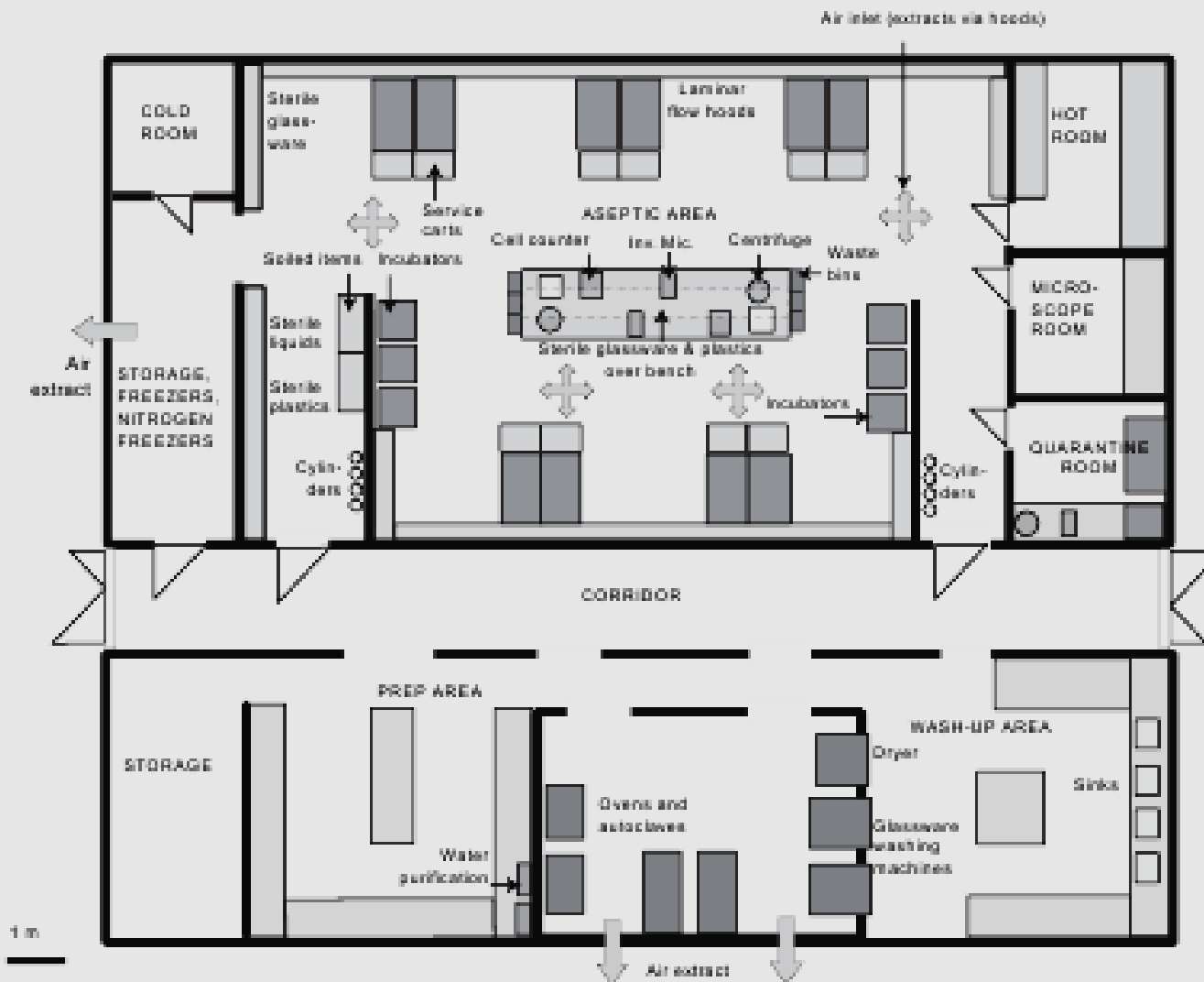


Fig. 4.4. Large Tissue Culture Laboratory. Suitable for 20 to 30 persons. Adjacent washing up, sterilization, and preparation area. Dark-shaded areas represent equipment, light-shaded areas fixed and movable furniture. Scale 1:200.

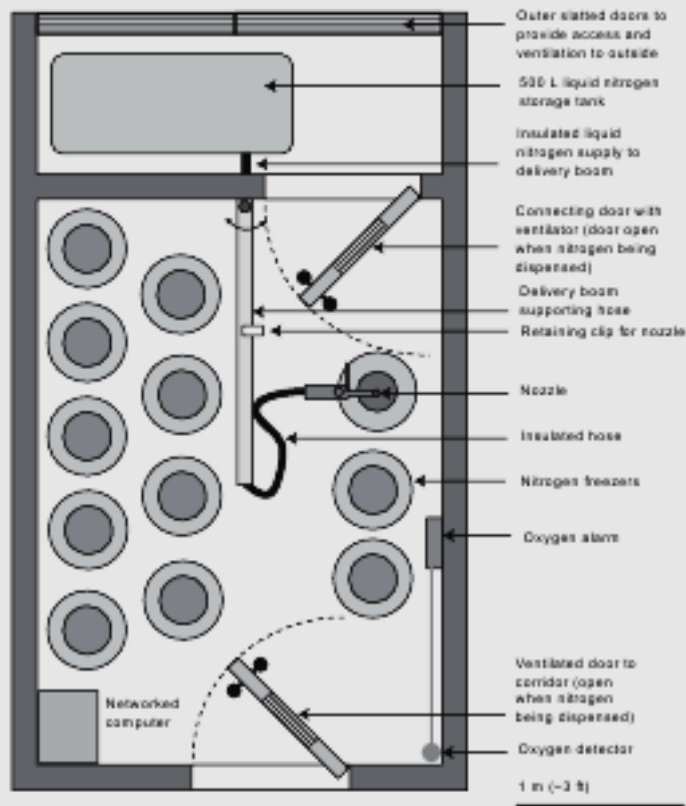


Fig. 4.7. Liquid Nitrogen Store and Freezer Store. The liquid nitrogen store is best located on an outer wall with ventilation to the outside and easy access for deliveries. If the freezer store is adjacent, freezers may be filled directly from an overhead supply line and flexible hose. Doors are left open for ventilation during filling, and a wall-mounted oxygen alarm with a low-mounted detector sounds if the oxygen level falls below a safe level.

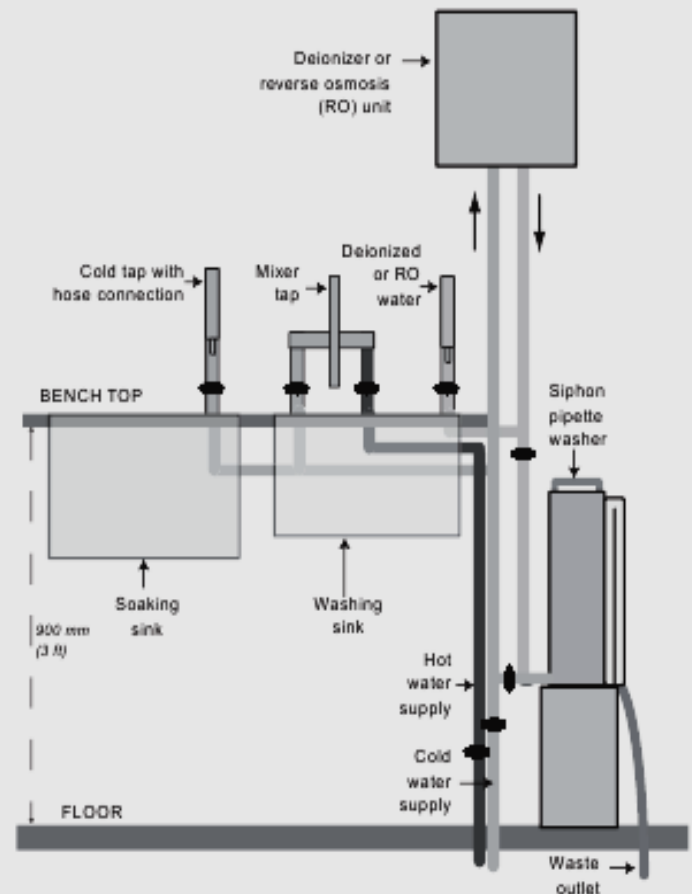


Fig. 4.6. Washing Up Sink and Pipette Washer. Suggested layout for soaking and wash up sinks, with hot, cold, and deionized water supplies. Scale 1:16.

w sprawie warunków, jakim powinny odpowiadać pomieszczenia i urządzenia ośrodka medycznie wspomaganey prokreacji

- § 1. 1. Ośrodek medycznie wspomaganey prokreacji powinien stanowić samodzielny budynek lub zespół budynków lub wyodrębnione pomieszczenia.
- 2. Dopuszcza się lokalizowanie ośrodka medycznie wspomaganey prokreacji w budynku o innym przeznaczeniu, pod warunkiem oddzielenia jego pomieszczeń od pomieszczeń innych użytkowników budynku.
- § 2. 1. Pomieszczenia ośrodka medycznie wspomaganey prokreacji nie powinny znajdować się poniżej poziomu terenu urządzonego przy budynku.
- 2. Dopuszcza się lokalizowanie pomieszczeń, w tym przeznaczonych do użytku osób, poniżej poziomu terenu urządzonego przy budynku, pod warunkiem uzyskania zgody właściwego państwowego inspektora sanitarnego.

w sprawie warunków, jakim powinny odpowiadać pomieszczenia i urządzenia ośrodka medycznie wspomagannej prokreacji

- § 3. Kształt i powierzchnia pomieszczenia powinny umożliwiać prawidłowe rozmieszczenie, zainstalowanie i użytkowanie wymaganych urządzeń, aparatury i sprzętu.
- § 4. Gromadzenie i przetwarzanie komórek rozrodczych i zarodków odbywa się w obiegu zamkniętym zabezpieczającym przed zakażeniem materiału biologicznego w trakcie procesów.
- § 5. 1. Podłogi powinny być wykonane z materiałów trwałych o powierzchniach gładkich, antypoślizgowych, zmywalnych, nienasiąkliwych i odpornych na działanie środków myjąco-dezynfekcyjnych.
- 2. Połączenie ścian z podłogami powinno zostać wykonane w sposób umożliwiający jego mycie i dezynfekcję.
- 3. Przepisy ust. 1 i 2 nie dotyczą pomieszczeń administracyjnych.

w sprawie warunków, jakim powinny odpowiadać pomieszczenia i urządzenia ośrodka medycznie wspomagananej prokreacji

- § 6. 1. Jeżeli orientacja okien pomieszczeń przeznaczonych do pobytu ludzi może powodować nadmierne naświetlenie tych pomieszczeń, powinny być zainstalowane urządzenia zabezpieczające przed nadmierną penetracją promieni słonecznych i przegrzewaniem.
- 2. Urządzenia, o których mowa w ust. 1, muszą być łatwe do utrzymania w czystości oraz nie mogą powodować gromadzenia się w nich zanieczyszczeń.
- § 7. Ściany wokół umywalek i zlewozmywaków powinny być wykończone w sposób zabezpieczający ścianę przed zawilgoceniem.
- § 8. Instalacje i urządzenia wentylacji mechanicznej i klimatyzacji powinny podlegać okresowemu czyszczeniu zgodnie z zaleceniami producenta, nie rzadziej niż co 24 miesiące. Dokonanie tych czynności powinno być udokumentowane.

w sprawie warunków, jakim powinny odpowiadać pomieszczenia i urządzenia ośrodka medycznie wspomaganey prokreacji

- § 9. 1. W ośrodku medycznie wspomaganey prokreacji powinny znajdować się:
 - > 1) co najmniej jedno pomieszczenie służące do przechowywania środków czystości oraz preparatów myjąco-dezynfekcyjnych, a także przygotowywania roztworów roboczych oraz mycia i dezynfekcji sprzętu stosowanego do utrzymywania czystości, służące również do zbierania brudnej bielizny i odpadów, wyposażone w zlew i armaturę (pomieszczenie porządkowe);
 - > 2) pomieszczenia lub wydzielone miejsca do składowania bielizny czystej;
 - > 3) pomieszczenia lub wydzielone miejsca do składowania bielizny brudnej;
 - > 4) pomieszczenie lub wydzielone miejsce na odpady.
- 2. Wydzielone miejsce, o którym mowa w ust. 1 pkt 2, nie może znajdować się w pomieszczeniu, w którym znajdują się wydzielone miejsca, o których mowa w ust. 1 pkt 3 i 4.
- 3. Pomieszczenia lub wydzielone miejsca, o których mowa w ust. 1, mogą być wspólne dla banku komórek rozrodczych i zarodków oraz ośrodka medycznie wspomaganey prokreacji.

w sprawie warunków, jakim powinny odpowiadać pomieszczenia i urządzenia ośrodka medycznie wspomaganey prokreacji

- § 10. 1. Układ funkcjonalny ośrodka medycznie wspomaganey prokreacji powinien zapewniać ciągi funkcjonalne w zakresie czynności związanych z odbiorem, rejestracją, znakowaniem, gromadzeniem i dystrybucją komórek rozrodczych i zarodków.
-
- 2. Ośrodek medycznie wspomaganey prokreacji zapewnia pomieszczenia lub urządzenia dla:
 - 1) odbioru komórek rozrodczych i zarodków;
 - 2) rejestracji komórek rozrodczych i zarodków;
 - 3) znakowania komórek rozrodczych i zarodków;
 - 4) przetwarzania komórek rozrodczych;
 - 5) kwarantanny komórek rozrodczych;
 - 6) zastosowania zarodków;
 - 7) dystrybucji komórek rozrodczych i zarodków.
- 3. Pomieszczenia i urządzenia powinny zapewniać prawidłowy przebieg czynności związanych z odbiorem, rejestracją, znakowaniem, gromadzeniem, przetwarzaniem i zastosowaniem komórek rozrodczych i zarodków, jak również czynności kontrolnych.

w sprawie warunków, jakim powinny odpowiadać pomieszczenia i urządzenia ośrodka medycznie wspomagananej prokreacji

- § 11. 1. Kwarantanna odebranych, zarejestrowanych i oznakowanych komórek rozrodczych powinna zapewniać ich przechowywanie w stanie niezmiennym od momentu odbioru do zwolnienia do przetwarzania.
- 2. Pomieszczenia lub urządzenia, w których przeprowadza się kwarantannę, muszą być wydzielone i posiadać wyraźne oznakowania, a dostęp do nich mogą mieć wyłącznie upoważnione osoby.
- § 12. Przetwarzanie, zastosowanie i dystrybucja komórek rozrodczych i zarodków powinny odbywać się w wydzielonym pomieszczeniu zapewniającym odpowiednie warunki komórkom rozrodczym i zarodkom do momentu ich wydania.

Czystość powietrza

Table 8.1(b) Classification of clean areas in terms of airborne particles

Grade	At rest		In operation	
	Maximum permitted number of particles/m ³			
	0.5–5.0 µm	>5 µm	0.5–5.0 µm	>5 µm
A	3 500	0	3 500	0
B	3 500	0	350 000	2 000
C	350 000	2 000	3 500 000	20 000
D	3 500 000	20 000	Not defined	Not defined

At rest = equipment installed and operating; *in operation* = installed equipment functioning and specified number of personnel present.

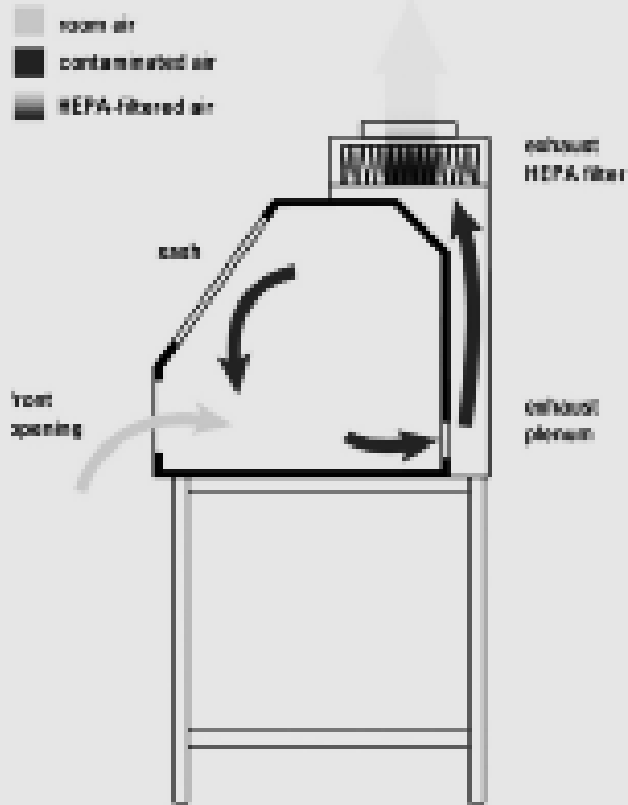
Table 9.1 Average values for limits of microbial detection in areas of defined air quality

Grade	Air sample (CFU/m ³)	Settle plates (90 mm diameter) (CFU/4 hours)	Contact plates (55 mm diameter) (CFU/plate)	Glove print (5 fingers) (CFU/glove)
A	<3	<3	<3	<3
B	10	5	5	5
C	100	50	25	–
D	200	100	50	–

CFU, colony forming units.

Class I Biological Safety Cabinet

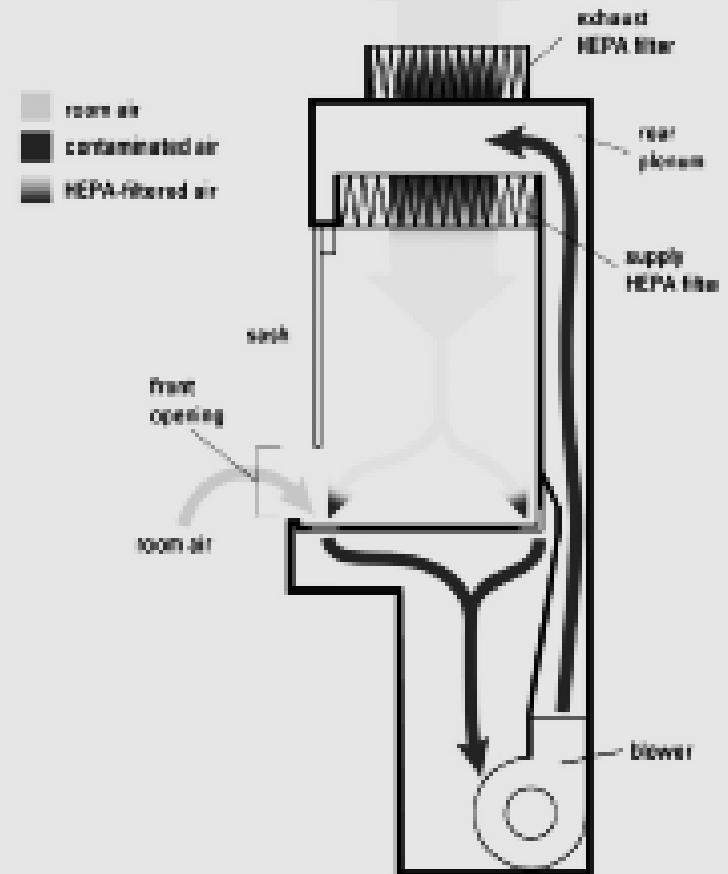
Side view



(a)

Class II Type A Biological Safety Cabinet

Side view

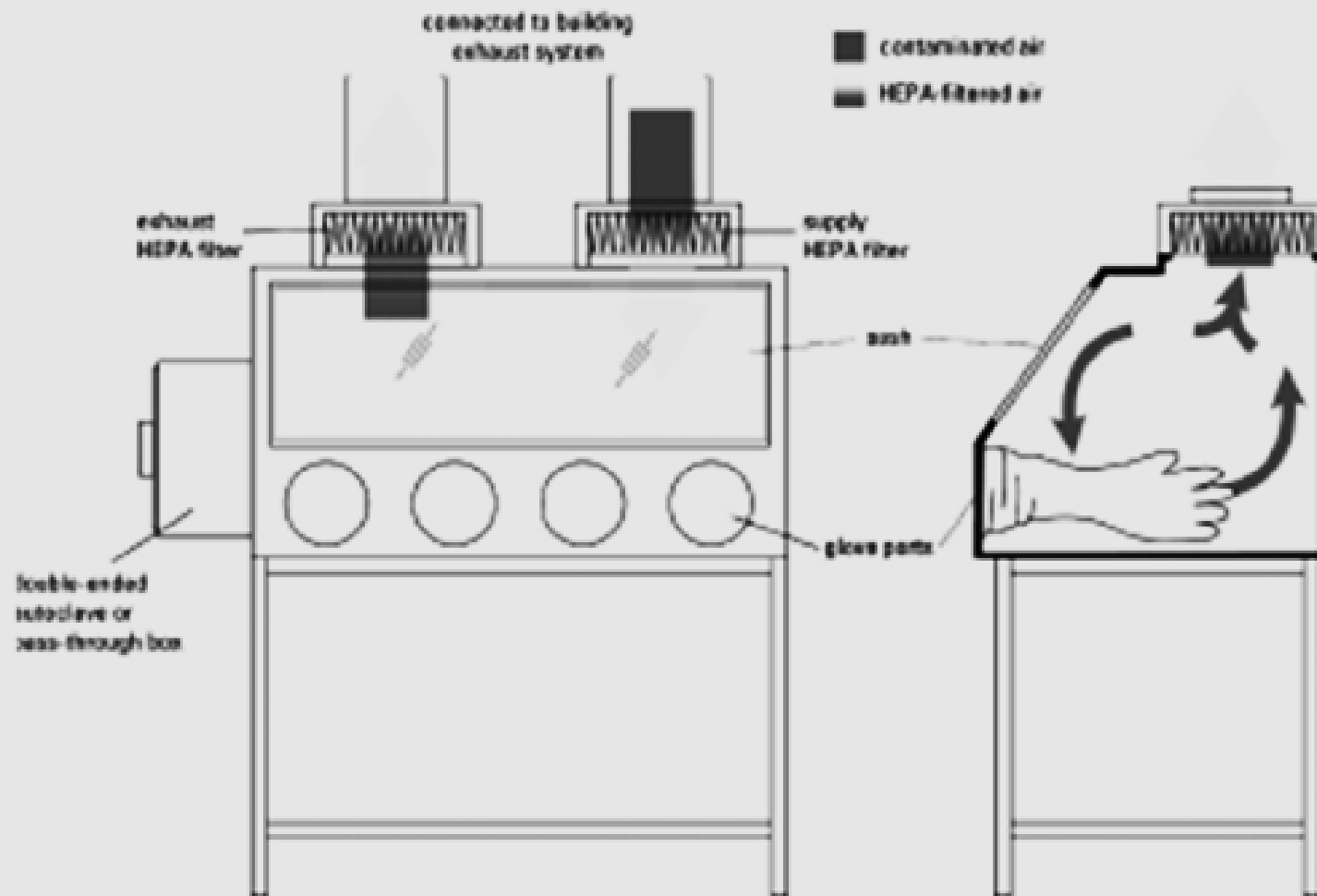


(b)

IVFtech



Class III Biological Safety Cabinet



Illustrations by: Matt Hazard University of Kentucky

(c)

Equipment and supplies for embryology

CO₂ incubator
Dissecting microscope
Inverted microscope
Heated surfaces for microscope and manipulation areas
Heating block for test-tubes
Laminar flow cabinet
Oven for heat-sterilizing
Small autoclave
Water bath
Pipette 10–1000 mL Eppendorf
Refrigerator
Supply of medical grade CO₂
Supply of 5% CO₂ in air (or special gas mixtures)
Wash bottle + Millex filter for gas
Rubber tubing
Pipette canisters
Clinical grade mineral or paraffin oil
Culture media
Glassware for media preparation
Osmometer (for media preparation)
Weighing balance
Tissue culture plastics: (Nunc, Corning, Sterilin)
Flasks for media and oil: 50 mL, 175 mL

Culture dishes: 60, 35 mm
OCR (oocyte retrieval) needles
Test-tubes for OCR: 17 mL disposable
Transfer catheters and stylets: embryo, GIFT, IUI
Syringes
Needles
Disposable pipettes: 1, 5, 10, 25 mL
“Pipetus” pipetting device
Eppendorf tips, small and large
Millipore filters: 0.22, 0.8 mm
Glass Pasteur pipettes (Volac)
Pipette bulbs
Test-tube racks
Rubbish bags
Tissues
Tape for labeling
7X detergent (Flow)
70% ethanol
Sterile gloves, latex and non-latex
Oil: Boots, Squibb, Sigma, Medicult
Supply of purified water: Milli-Q system or Analar
Glassware for making culture media: beakers, flasks, measuring cylinder

TABLE 4.1. Tissue Culture Facilities

Minimum requirements	Desirable features	Useful additions
Sterile area, clean, quiet, and with no through traffic	Filtered air (air-conditioning)	Piped CO ₂ and compressed air
Separate from animal house and microbiological labs	Service bench adjacent to culture area	Storeroom for bulk plastics
Preparation area	Separate prep room	Quarantine room
Wash up area (not necessarily within tissue culture laboratory, but at least adjacent to it)	Hot room with temperature recorder	Containment room (could double as quarantine room)
Space for incubator(s)	Separate sterilizing room	Liquid N ₂ storage tank (~500 L) and separate storeroom for nitrogen freezers
Storage areas:	Separate cylinder store	Microscope room
Liquids: ambient, 4°C, -20°C		Darkroom
Glassware (shelving)		Vacuum line
Plastics (shelving)		
Small items (drawers)		
Specialized equipment (slow turnover), cupboard(s)		
Chemicals: ambient, 4°C, -20°C; share with liquids, but keep chemicals in sealed container over desiccant		
CO ₂ cylinders		
Space for liquid N ₂ freezer(s)		
Sink		

TABLE 5.1. Tissue Culture Equipment

Basic requirements	Nonessential, but beneficial	Useful additions
Laminar-flow hood (biohazard if for human cells)	Cell counter	Glassware washing machine
Incubator (humid CO ₂ incubator if using open plates or dishes)	Peristaltic pump	Low-temperature ($\leq -70^{\circ}\text{C}$) freezer
5% CO ₂ cylinder (for gassing cultures)	Pipettor(s)	Conductivity meter
Liquid CO ₂ cylinders, without siphon (for CO ₂ incubator)	PH meter	Osmometer
Balance	Sterilizing oven	Polyethylene bag sealer (for packaging sterile items for long-term storage)
Sterilizer (autoclave, pressure cooker)	Hot room	Computer for freezer records and cell line database
Refrigerator	Temperature recorders on sterilizing oven and autoclave and in hot room	Colony counter
Freezer (for -20°C storage)	Phase-contrast, fluorescence microscope	High-capacity centrifuge (6 × 1 L)
Inverted microscope	Pipette plugger	Digital camera and monitor for inverted microscope(s)
Soaking bath or sink	Pipette drier	Time-lapse video equipment
Deep washing sink	Automatic dispenser	Cell sizer (e.g., Schärfe, Coulter)
Pipette cylinder(s)	Trolleys or carts	Portable temperature recorder for checking hot room or incubators
Pipette washer	Drying oven(s), high and low temperature	Plastics shredder/sterilizer
Still or water purifier	Roller racks for roller bottle culture	Controlled-rate cooler (for cell freezing)
Bench centrifuge	Piped CO ₂ supply from cylinder store	Fluorescence-activated cell sorter
Liquid N ₂ freezer (~35 L, 1,500–3,000 ampoules)	Automatic changeover device on CO ₂ cylinders	Confocal microscope
Liquid N ₂ storage Dewar (~25 L)		Microtitration plate scintillation counter
Slow-cooling device for cell freezing (see Section 20.3.4)		Centrifugal elutriator centrifuge and rotor
Magnetic stirrer racks for suspension cultures		
Hemocytometer		

TABLE 7.1. Elements of Risk Assessment

Category	Items affecting risk
Operator	
Experience	Level Relevance Background
Training	Previous New requirements
Protective clothing	Adequate Properly worn (buttoned lab coat) Laundered regularly Repaired or discarded when damaged
Equipment	
Age	Condition Adherence to new legislation
Suitability for task	Access, sample capacity, containment
Mechanical stability	Loading Anchorage Balance
Electrical safety	Connections Leakage to ground (earth) Proximity of water
Containment	Aerosols: Generation Leakage from hood ducting Overspill from work area Toxic fumes Exhaust ductwork: Integrity Site of effluent and downwind risk
Heat	Generation Dissipation
Maintenance	Frequency Decontamination required?
Disposal	Route Decontamination required?
Physical Risks	
Intense cold	Frostbite Numbing
Electric shock	Loss of consciousness Cardiac arrest
Fire	General precautions Equipment wiring, installation, and maintenance Incursion of water near electrical wiring Fire drills, procedures, escape routes Solvent usage and storage (e.g., do not store ether in refrigerators) Flammable mixtures Identification of stored biohazards and radiochemicals

TABLE 7.1. Elements of Risk Assessment (Continued)

Category	Items affecting risk
Chemicals (including gases and volatile liquids)	
Scale	Amount used
Toxicity	Poisonous Carcinogenic Teratogenic Mutagenic Corrosive Irritant Allergenic Asphyxiative
Reaction with water	Heat generation Effervescence
Reaction with solvents	Heat generation Effervescence Generation of explosive mixture
Volatility	Intoxication Asphyxiation Dissemination
Generation of powders and aerosols	Inhalation Breakage, leakage
Import, export, and transportation	
Location and storage conditions	Access by untrained staff Illegal entry Weather, incursion of water Stability, compression, breakage, leakage
Biohazards	
Pathogenicity	Grade Infectivity Host specificity Stability
Scale	Number of cells Amount of DNA
Genetic manipulation	Host specificity Vector infectivity Disablement
Containment	Room Cabinet Procedures
Radioisotopes	
Emission	Type Energy Penetration, shielding Interaction, ionization Half-life
Volatility	Inhalation Dissemination
Localization on ingestion	DNA precursors, such as [³ H]thymidine
Disposal	Solid, liquid, gaseous Route Legal limits

TABLE 7.1. Elements of Risk Assessment (Continued)

Category	Items affecting risk
Special Circumstances	
Pregnancy	Immunodeficiency Risk to fetus, teratogenicity
Illness	Immunodeficiency
Immunosuppressant drugs	Immunodeficiency
Cuts and abrasions	Increased risk of absorption
Allergy	Powders, e.g., detergents Aerosols Contact, e.g., rubber gloves
Elements of Procedures	
Scale	Amount of materials used Size of equipment & facilities and effect on containment Number of staff involved
Complexity	Number of steps or stages Number of options Interacting systems and procedures
Duration	Process time Incubation time Storage time
Number of persons involved	Increased risk? Diminished risk?
Location	Containment Security and access



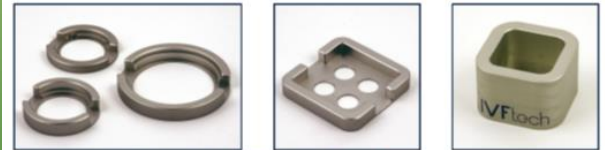








Warming blocks
for small and larger test tubes: 14/17 cc or 6 cc.



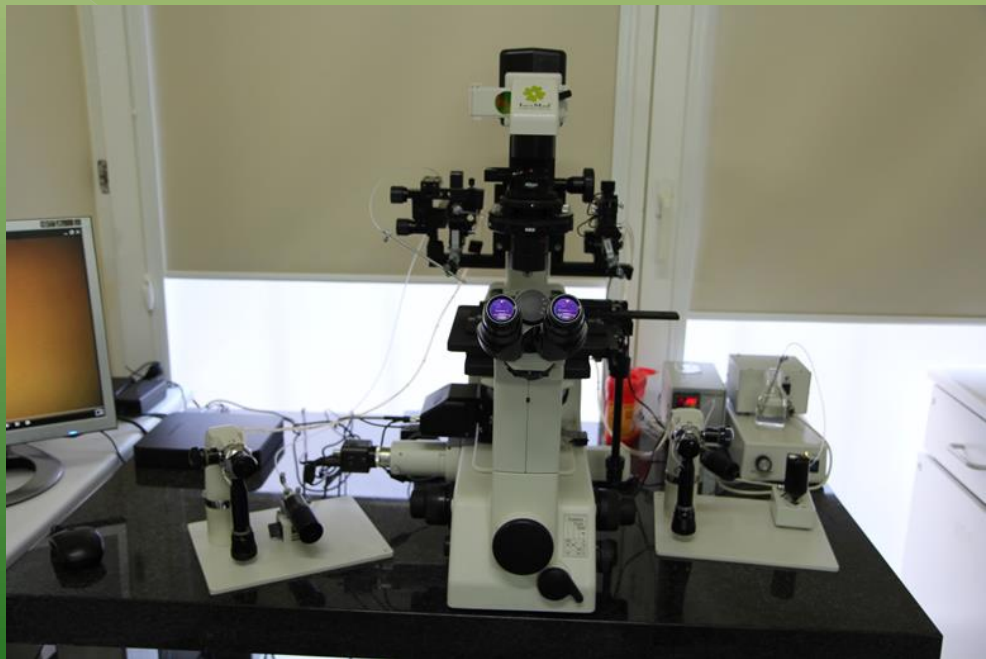
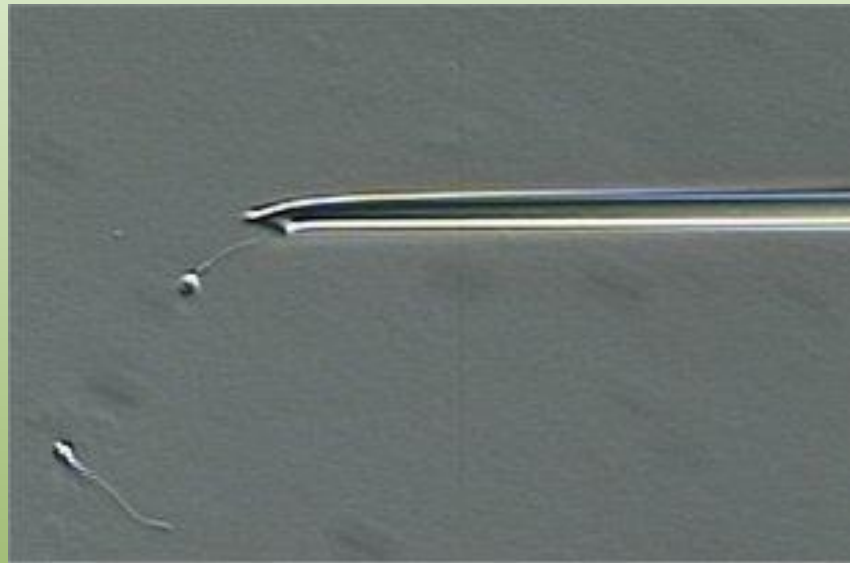
Warming blocks for petri dishes and media flask
Warming blocks may be used to secure the temperature in the plastic dish while used at the tempered tabletop.



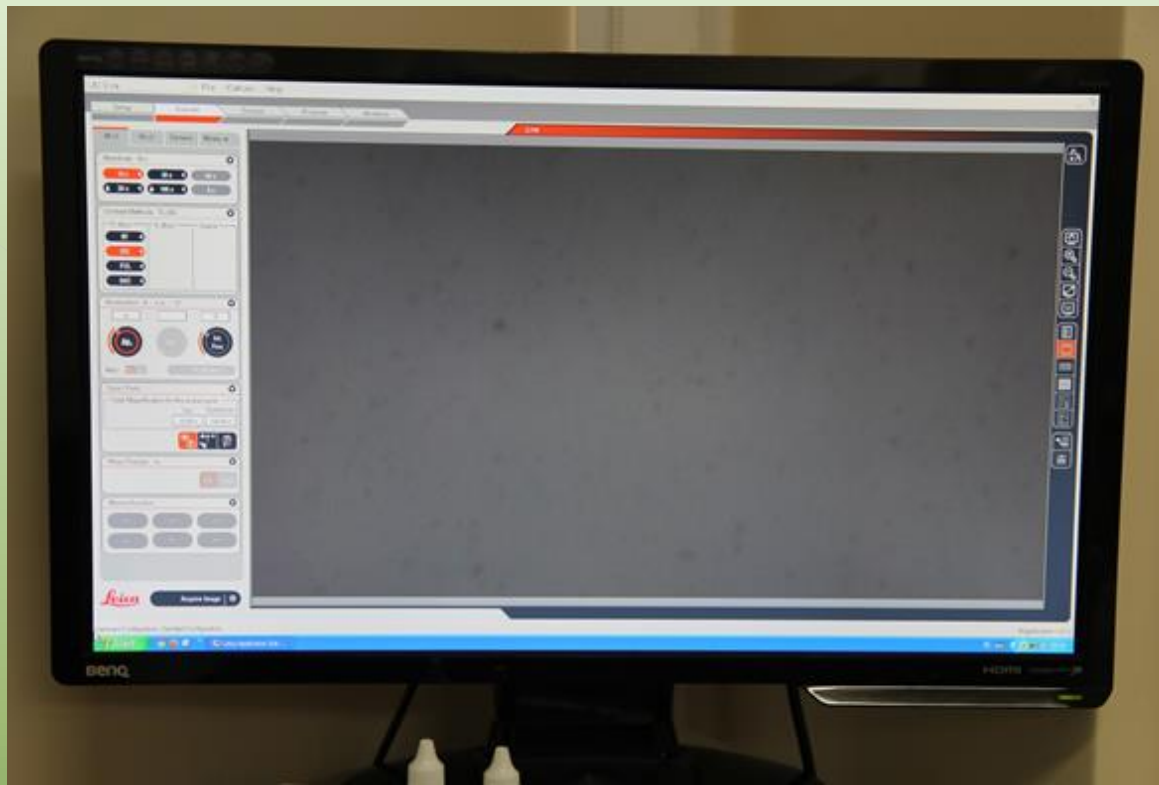
Glass hood
for CO₂ flow to the culture dishes which are to be used to equilibrate the culture medium.

Glass bubble flask



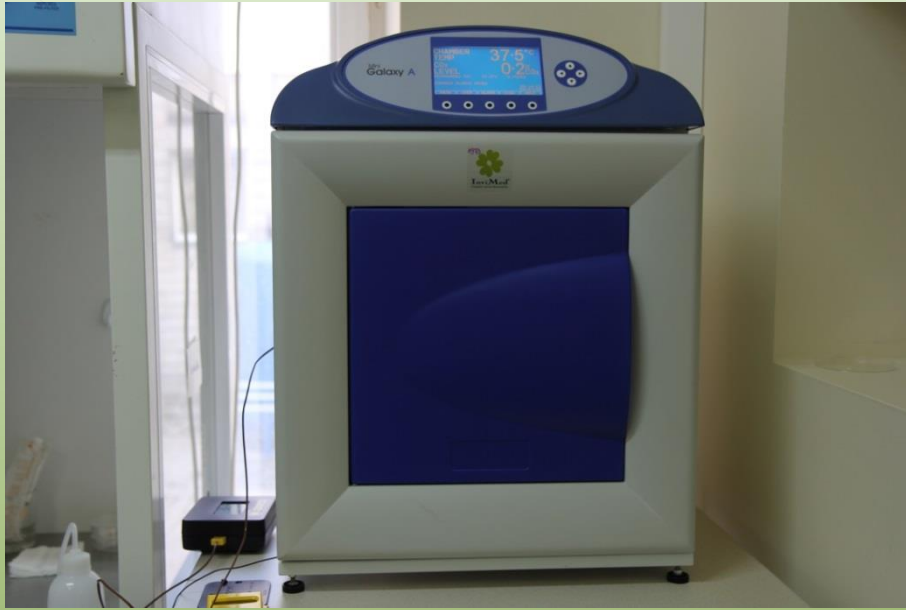




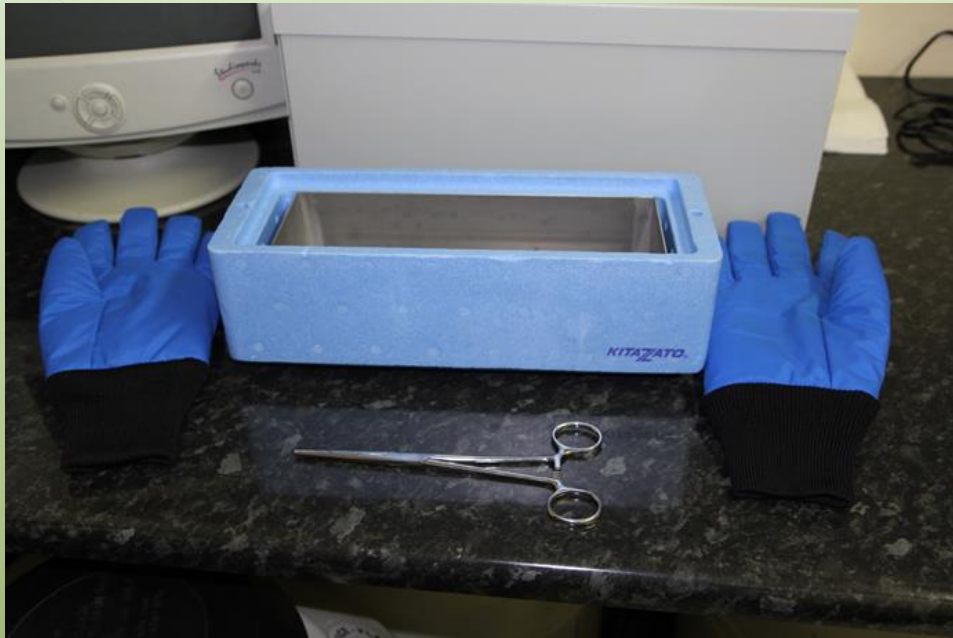














Materiaty

- <http://www.irvinesci.com/assisted-reproductive-technology>
- <http://www.origio.com/en/products/all-products>
- <http://www.vitrolife.com/>
- <http://nidacon.com/products/>
- http://www.eppendorf.com/img/startseiten/Eppendorf_India_Products_for_Hospital_Diagnostics_and_IVF_Labs.pdf



**Dziękuję
za
uwagę**

