



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ**

**ΣΧΟΛΗ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ**

**ΤΜΗΜΑ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΒΙΟΪΑΤΡΙΚΗΣ**

**ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ  
ΚΕΝΤΡΟΥ ΥΠΟΒΟΗΘΟΥΜΕΝΗΣ  
ΓΟΝΙΜΟΠΟΙΗΣΗΣ**

**Σοφία Βαρδάκη  
Αριθμός Μητρώου: 16013**

**Επιβλέπων Καθηγητής  
Γεώργιος Φούντος, Καθηγητής**

**Αθήνα 14/07/2022**

Η Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή

Ο Επιβλέπων Καθηγητής

Γεώργιος Φούντος

Καθηγητής

[ΨΗΦΙΑΚΗ ΥΠΟΓΡΑΦΗ]

Χρήστος Μιχαήλ

Καθηγητής

[ΨΗΦΙΑΚΗ ΥΠΟΓΡΑΦΗ]

Ιωάννης Βαλαής

Καθηγητής

[ΨΗΦΙΑΚΗ ΥΠΟΓΡΑΦΗ]

**ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΓΡΑΦΕΑ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ**

Η υπογράφουσα Σοφία Βαρδάκη του Σταύρου, με αριθμό μητρώου 16013 φοιτήτρια του Τμήματος Μηχανικών Βιοϊατρικής της Σχολής Μηχανικών του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής, δηλώνω υπεύθυνα ότι:

«Είμαι συγγραφέας αυτής της διπλωματικής εργασίας και κάθε βοήθεια την οποία είχα για την προετοιμασία της είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες έκανα χρήση δεδομένων, ιδεών ή λέξεων, είτε ακριβώς είτε παραφρασμένες, αναφέρονται στο σύνολό τους, με πλήρη αναφορά στους συγγραφείς, τον εκδοτικό οίκο ή το περιοδικό, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το διαδίκτυο. Επίσης, βεβαιώνω ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από μένα αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μου, όσο και του Ιδρύματος.

Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μου ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση του διπλώματός μου».

Ημερομηνία

14/07/2022

Η Δηλούσα

Σοφία Βαρδάκη



## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η έννοια “Υποβοηθούμενη Αναπαραγωγή” περιλαμβάνει τους τρόπους και τις μεθόδους, οι οποίες μπορούν να βοηθήσουν στην προσπάθεια ενός ζευγαριού να τεκνοποιήσει. Σε αυτές τις μεθόδους εντάσσεται η παρακολούθηση ωορρηξίας, η προγραμματισμένη επαφή, η σπερματέγχυση, και τέλος η εξωσωματική γονιμοποίηση. Αφορά τα ζευγάρια που δεν έχουν την δυνατότητα να τεκνοποιήσουν με φυσική σύλληψη μετά από συγκεκριμένο χρονικό διάστημα. Επίσης, εξαρτάται από διάφορους συντελεστές, όπως και κάποιες φορές είναι εύκολο να εντοπιστεί η αιτία, άλλες όμως μπορεί να είναι δύσκολο. Το 1/3 των περιπτώσεων το θέμα αφορά τον άνδρα, το 1/3 τη γυναίκα και το υπόλοιπο 1/3 αφορά και τα δύο άτομα. Ο σκοπός της εργασίας αυτής είναι να αναλύσει τις μεθόδους υποβοηθούμενης γονιμοποίησης, όπως επίσης και να αριθμήσει τα μέρη από τα οποία αποτελείται το εργαστήριο όπου επιτελείται η διαδικασία. Πιο αναλυτικά, να περιγράψει τα μηχανήματα τα οποία απαρτίζουν ένα κέντρο εξωσωματικής γονιμοποίησης και τους απαραίτητους ελέγχους ποιότητας αυτών.

*Λέξεις Κλειδιά: Υποβοηθούμενη αναπαραγωγή, υπογονιμότητα, τμήμα κυτταρογενετικής, τμήμα μοριακής κυτταρογενετικής, τμήμα arrayscgh, κυτταροκαλλιέργειες, αναλώσιμα, ποιοτικός έλεγχος, τεχνητή νοημοσύνη.*

## ABSTRACT

The concept of "Assisted Reproduction" includes ways and methods that can help a couple strive to have children. These methods include ovulation monitoring, scheduled intercourse, insemination, and finally in vitro fertilization. It concerns couples who do not have the ability to conceive naturally after a certain period of time. It also depends on various factors, as sometimes the cause is easy to identify, but others can be difficult. In 1/3 of the cases the issue concerns the man, 1/3 of the woman and the remaining 1/3 concerns the two people. The purpose of this work is to analyze assisted fertilization methods, as well as to number the parts that make up the laboratory where the procedure is performed. Describe in more detail the machines that make up an in vitro fertilization center and the necessary quality controls

*Key words: Assisted reproduction, infertility, cytogenetics department, molecular cytogenetics department, arrays cgh department, cell cultures, consumption, quality control, artificial intelligence.*

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

|  |              |
|--|--------------|
| <b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1</b> .....                                      | <b>8</b>     |
| ΕΙΣΑΓΩΓΗ   |              |
| <b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2</b> .....                                      | <b>9-11</b>  |
| ΥΠΟΓΟΝΙΜΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΑΙΤΙΑ                                      |              |
| <b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3</b> .....                                      | <b>12-21</b> |
| ΥΠΟΒΟΗΘΟΥΜΕΝΗ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ                                    |              |
| ΜΕΘΟΔΟΙ ΥΠΟΒΟΗΘΟΥΜΕΝΗΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗΣ                          |              |
| ΕΝΔΟΜΗΤΡΙΑ ΣΠΕΡΜΑΤΕΓΧΥΣΗ.....                                | 12           |
| ΕΞΩΣΩΜΑΤΙΚΗ ΓΟΝΙΜΟΠΟΙΗΣΗ.....                                | 14           |
| ΜΙΚΡΟΓΟΝΙΜΟΠΟΙΗΣΗ.....                                       | 16           |
| ΥΠΟΒΟΗΘΟΥΜΕΝΗ ΕΚΚΟΛΛΑΨΗ.....                                 | 17           |
| ΚΡΥΟΣΥΝΤΗΡΗΣΗ ΕΜΒΡΥΩΝ.....                                   | 18           |
| ΚΡΥΟΣΥΝΤΗΡΗΣΗ ΩΑΡΙΩΝ.....                                    | 19           |
| ΥΑΛΟΠΟΙΗΣΗ.....  | 19           |
| ΕΝΔΟΣΑΛΠΙΓΓΙΚΗ ΜΕΤΑΦΟΡΑ ΓΑΜΕΤΩΝ.....                         | 20           |
| ΜΙΚΡΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΛΗΨΗ ΣΠΕΡΜΑΤΟΖΩΑΡΙΩΝ.....                   | 21           |
| ΠΡΟΕΜΦΥΤΕΥΤΙΚΗ ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ.....                        | 21           |
| <b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4</b> .....                                      | <b>22-44</b> |
| ΣΥΣΤΑΣΗ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ ΥΠΟΒΟΗΘΟΥΜΕΝΗΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗΣ              |              |
| ΤΜΗΜΑ ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗΣ.....                                  | 23           |
| ΤΜΗΜΑ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗΣ.....                         | 23           |
| ΤΜΗΜΑ ARRAYS CGH.....  | 24           |
| ΤΜΗΜΑ ΜΟΡΙΑΚΗΣ.....  | 25           |
| <b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5</b> .....                                      | <b>26-42</b> |
| ΚΑΤΑΓΡΑΦΗ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΩΝ ΜΗΧΑΝΗΜΑΤΩΝ ΜΟΝΑΔΑΣ ΥΠΟΒΟΗΘΟΥΜΕΝΗΣ   |              |
| ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗΣ.....                             | 26           |
| ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗΣ.....                    | 35           |
| ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΚΑΙ ARRAYS CGH.....                      | 35           |
| ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΜΟΡΙΑΚΗΣ.....                                     | 38           |
| ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΜΟΝΑΔΑΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗΣ.....                         | 40           |
| <b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6</b> .....                                      | <b>43-55</b> |
| ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ                              |              |
| ΚΛΙΝΙΚΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΚΑΙ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ.....  | 43           |
| ΟΡΓΑΝΩΣΗ/ΝΟΜΙΚΟ ΠΛΑΙΣΙΟ/ ΔΙΕΘΝΗΣ ΚΑΤΕΥΘΥΝΤΗΡΙΕΣ ΟΔΗΓΙΕΣ..... | 44           |
| ΑΣΦΑΛΕΙΑ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ/ ΥΓΕΙΑ ΚΑΙ ΑΣΦΑΛΕΙΑ ΕΡΓΑΖΟΜΕΝΩΝ.....    | 44           |
| ΕΓΚΑΤΑΣΤΑΣΕΙΣ ΚΑΙ ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΑΕΡΑ.....                         | 46           |

ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΟΣ ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΕΝΟΣ ΚΕΝΤΡΟΥ ΥΠΟΒΟΗΘΟΥΜΕΝΗΣ  
ΓΟΝΙΜΟΠΟΙΗΣΗΣ

|   |              |
|---|--------------|
| ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ / ΣΥΝΤΗΡΗΣΕΙΣ/ ΔΙΑΚΡΙΒΩΣΕΙΣ/ ΕΞΩΤΕΡΙΚΟΣ ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ..... | 48           |
| ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΠΡΟΜΗΘΕΥΤΕΣ.....  | 49           |
| ΔΙΕΡΓΑΣΙΕΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ/ ΟΔΗΓΙΕΣ/ ΕΛΕΓΧΟΣ ΑΡΧΕΙΩΝ.....                       | 50           |
| ΙΧΝΗΛΑΣΙΜΟΤΗΤΑ.....   | 52           |
| ΕΠΙΛΥΣΗ ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΩΝ.....  | 53           |
| ΤΡΑΠΕΖΑ ΚΡΥΟΣΥΝΤΗΡΗΣΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΩΝ ΥΛΙΚΩΝ.....                              | 54           |
| ΕΚΘΕΣΕΙΣ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ.....   | 56           |
| <b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7.....</b>  | <b>56-57</b> |
| ΝΕΕΣ ΕΞΕΛΙΞΕΙΣ ΣΤΗΝ ΥΠΟΒΟΗΘΟΥΜΕΝΗ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ                             |              |
| <b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8.....</b>  | <b>58-63</b> |
| ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ  |              |

# ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η εργασία ξεκινάει με την ανάλυση του ορισμού της υποβοηθούμενης αναπαραγωγής, καθώς και των μεθόδων που υπάρχουν. Αρχικά, αναλύεται η υπογονιμότητα και τα αίτια που την προκαλούν. Στο τέταρτο κεφάλαιο, το οποίο είναι και το πιο βασικό, περιγράφεται η σύσταση του εργαστηρίου υποβοηθούμενης αναπαραγωγής και τα τμήματα από τα οποία απαρτίζεται. Έπειτα, περιγράφονται τα εργαλεία και τα μηχανήματα που χρησιμοποιούνται για την επίτευξη αυτής της διαδικασίας. Επιπρόσθετα, αριθμούνται τα συστήματα διαχείρισης ποιότητας του κλινικού εργαστηρίου, οι εγκαταστάσεις ποιότητας του αέρα και η επίβλεψη της ασφάλειας των εργαζομένων καθώς και οι διεργασίες ποιότητας των ελέγχων των αρχείων και των αποτελεσμάτων. Τέλος, αναφέρονται εξελίξεις σε αυτόν τον τομέα και μελλοντικές ιδέες.



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

### ΥΠΟΓΟΝΙΜΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΑΙΤΙΑ

#### **ΥΠΟΓΟΝΙΜΟΤΗΤΑ**

Με βάση τις έρευνες της Ευρωπαϊκής και Αμερικάνικης εταιρίας υπογονιμότητας (ASRM, ESHRE), ένα ζευγάρι εάν έπειτα από διάστημα ενός χρόνου δεν έχει καταφέρει να τεκνοποιήσει, είναι απαραίτητο να ψάξει περαιτέρω την αιτία της υπογονιμότητας. Το μεγαλύτερο μέρος των περιπτώσεων οφείλεται στον άντρα (40%) ή στη γυναίκα (40%), αλλά μπορεί τα αίτια να μην είναι διακριτά και η υπογονιμότητα να είναι ανεξήγητη (20%). Η υπογονιμότητα ορίζεται ως ανεξήγητη όταν παρά τον σωστό και τακτικό έλεγχο δεν μπορεί να εντοπιστεί κάποιο προφανές αίτιο, το οποίο να φέρει ευθύνη για την αδυναμία επίτευξης κύησης. Ακόμα, την υπογονιμότητα την χωρίζουμε σε δύο υποκατηγορίες. Σε πρωτοπαθή και σε δευτεροπαθή. Στην πρώτη περίπτωση, το οποίο αναλογεί στο 70% των ζευγαριών που είναι υπογόνιμα, το ζευγάρι δεν είχε ποτέ επιτυχής σύλληψη. Η δεύτερη περίπτωση αφορά το υπόλοιπο 30% των υπογόνιμων ζευγαριών, όπου η γυναίκα κατάφερε να μείνει έγκυος τουλάχιστον έναν χρόνο πριν. Στην Ελλάδα ο αριθμός των ζευγαριών που δεν καταφέρνουν να αποκτήσουν παιδί, ανέρχεται στα 300.000, παρόλο που υπάρχει άνοδος στον αριθμό των ζευγαριών που ζητούν ιατρική βοήθεια τα τελευταία χρόνια. Η συνεχής μόρφωση των πολιτών, όπως και η ευρύτερη και καλύτερη πληροφόρηση είναι αυτά που τους οδηγούν σε αυτή την αποτελεσματική θεραπεία εξωσωματικής γονιμοποίησης. **[Αλμαλόγλου, 2017]**

#### **ΑΙΤΙΑ ΥΠΟΓΟΝΙΜΟΤΗΤΑΣ**

Στον δυτικό τομέα τα τελευταία χρόνια το φαινόμενο της υπογονιμότητας εμφανίζεται όλο και συχνότερα, κάτι το οποίο όπως αναμένεται, οδηγεί τα ζευγάρια σε γιατρούς που εξειδικεύονται σε αυτό και σε κέντρα νοσηλείας, έτσι ώστε να βρουν λύση στο πρόβλημα τους. Ο γυναικολόγος εξωσωματικής, ο οποίος είναι ο αρμόδιος γιατρός, θα ξεκινήσει μια διερεύνηση για τα αίτια της υπογονιμότητας του ζεύγους. Για να μπορέσει να βρει λύση ο γιατρός ακολουθώντας τα διεθνή πρότυπα, πρέπει να ερευνήσει γενετικά τα ζευγάρια με ιστορικό υπογονιμότητας όπως:

1. Ένα έτος μη επιτυχημένων αποπειρών τεκνοποίησης
2. Πολλαπλές αποβολές
3. Ανδρική ολιγοσπερμία και αζωοσπερμία

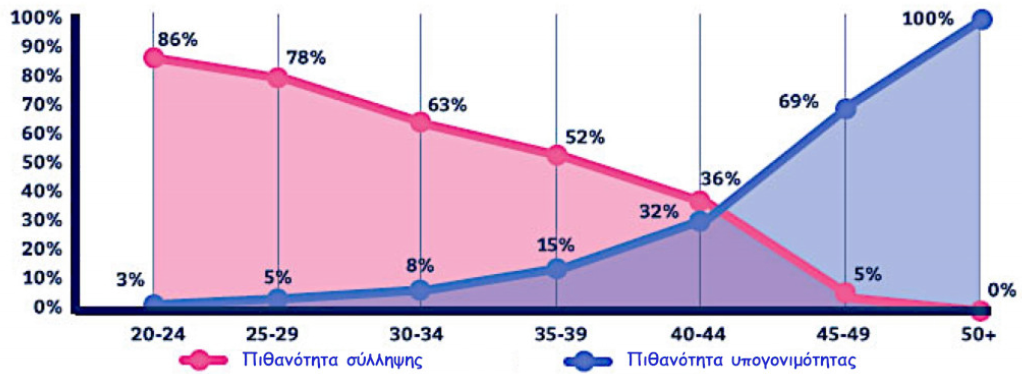
Τα αίτια αυτών των προβλημάτων είναι τα εξής:

Η ηλικία της μητέρας: Συγκριτικά με τις γυναίκες κάτω των 35 ετών, αυτές που είναι μεγαλύτερες εμφανίζουν μεγαλύτερο κίνδυνο να κάνουν παιδί το οποίο ίσως να εμφανίσει κάποια μορφή χρωμοσωμικής ανευπλοειδίας, από τις οποίες πιο διαδεδομένη είναι η τρισωμία του χρωμοσώματος 21 ή το σύνδρομο Down.

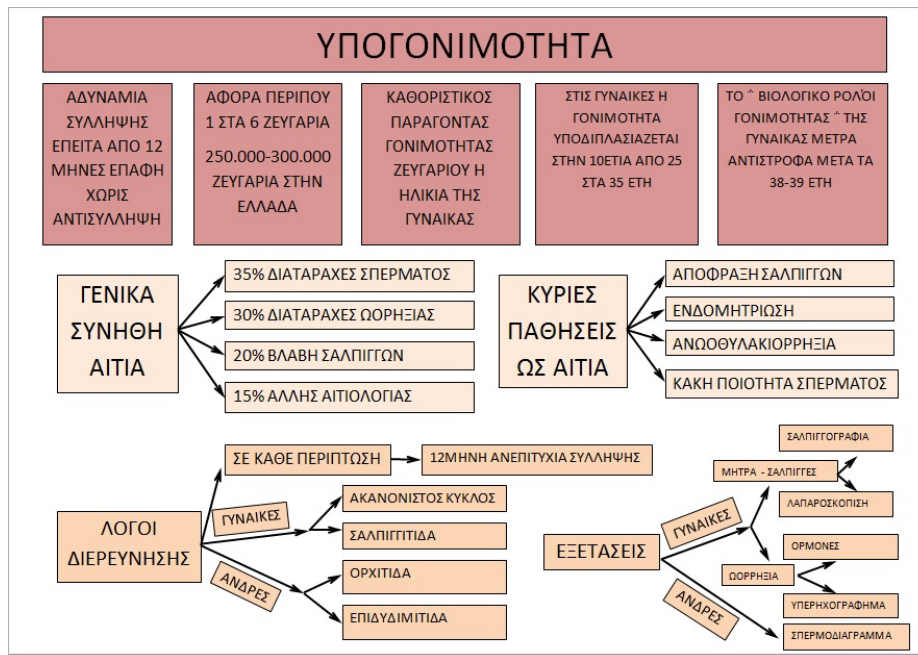
Ολιγοσπερμία και αζωοσπερμία στους άνδρες: Είναι πιθανό τα άτομα αυτά να έχουν κάποια ασθένεια, από τα οποία το πιο σύνηθες να είναι το σύνδρομο Klinefelter. Αυτό είναι ικανό να επιφέρει μέχρι και στειρότητα.

Φορείς χρωμοσωματικών μεταθέσεων: Συγκριτικά με τον υπόλοιπο πληθυσμό αυτά τα άτομα έχουν διακινδύνευση πολλαπλών αποβολών. Αυτό συμβαίνει διότι παράγεται και ισοζυγισμένη χρωμοσωματική μετάθεση εκτός από τους ισοζυγισμένους γαμέτες και τους γαμέτες μη ισοζυγισμένους γενετικά. Αυτοί είναι παράγωγα της μετάθεσης και οδηγούνσε παθολογικά έμβρυα, τα όποιαζουν μόνο για μερικές εβδομάδες στη μήτρα, ενώ τελικά αποβάλλονται αφού γενετικά δεν είναι συμβατά με την ζωή. **[Δρ. Παράσχος, 2018]**

ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΟΣ ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΕΝΟΣ ΚΕΝΤΡΟΥ ΥΠΟΒΟΗΘΟΥΜΕΝΗΣ ΓΟΝΙΜΟΠΟΙΗΣΗΣ



Εικόνα 1. Γονιμότητα



Εικόνα 2. Υπογονιμότητα

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

### ΥΠΟΒΟΗΘΟΥΜΕΝΗ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ

Η υπογονιμότητα είναι ένα σοβαρό θέμα που ταλαιπωρεί τα ζευγάρια στην σύγχρονη εποχή. Έρευνες έχουν δείξει πως το 1/7 των ζευγαριών σήμερα, δεν καταφέρνει να τεκνοποιήσει, έπειτα από τακτικές προσπάθειες ενός έτους. Αφού διερευνήσουν κατάλληλα, η πλειοψηφία καταλήγει σε ιατρικώς υποβοηθούμενες μεθόδους σύλληψης. Ο όρος υποβοηθούμενη αναπαραγωγή ουσιαστικά αναφέρεται σε όλες εκείνες τις διαδικασίες που στοχεύουν στην σύλληψη μετά από ιατρική βοήθεια.

### ΜΕΘΟΔΟΙ ΥΠΟΒΟΗΘΟΥΜΕΝΗΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗΣ (ASSISTED REPRODUCTIVE TECHNIQUES/ART)

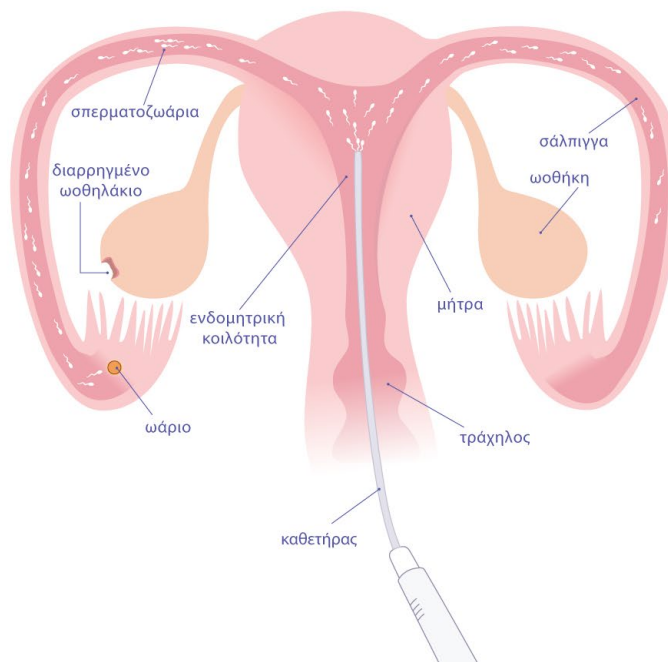
Σύμφωνα με το επίπεδο παρέμβασης που επιλέγουμε να διεκπεραιώσουμε, διακρίνουμε τρεις μεγάλες κατηγορίες μεθόδων τεχνικών υποβοηθούμενης γονιμοποίησης:

- 1) Πρόκληση ωοθυλακιορρηξίας με την βοήθεια φαρμάκων με ενδομήτριο σπερματέγχυση
- 2) Πρόκληση ωοθυλακιορρηξίας με την βοήθεια φαρμάκων δίχως ενδομήτριο σπερματέγχυση
- 3) Εφαρμογή μεθόδων εξωσωματικής γονιμοποίησης [STRAUSS, JEROME F., 2019]

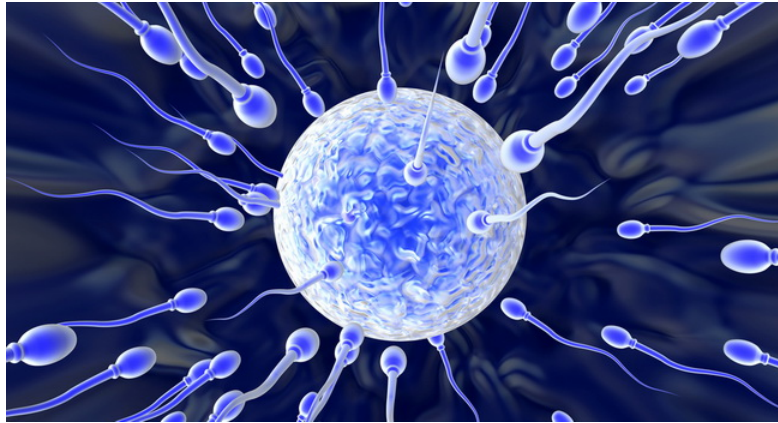
### *ΕΝΔΟΜΗΤΡΙΟ ΣΠΕΡΜΑΤΕΓΧΥΣΗ (IUI)*

Είναι μία μέθοδος, η οποία είναι αρκετά ανώδυνη. Σε αυτήν τοποθετείται σπέρμα το οποίο έχει περάσει από την κατάλληλη επεξεργασία στο εσωτερικό της μήτρας της γυναίκας. Δεν κατατάσσεται στις ακριβές διεργασίες, καθώς απαιτείται ήπια έως και μηδενική φαρμακευτική αγωγή. Επίσης, μπορεί να εφαρμοσθεί και σε φυσικό κύκλο της γυναίκας μετά από υπερηχογραφική παρακολούθηση της ωοθυλακιορρηξίας, δεν απαιτεί την νάρκωση της και μετά από λίγη ώρα μπορεί να συνεχίσει κανονικά τις ασχολίες της χωρίς κανένα πρόβλημα.

Με κύριο σκοπό την αύξηση παραγωγής ωοθυλακίων (superovulation), αλλά και των ποσοστών επιτυχίας της, πολύ συχνά ακολουθείται από συγκεκριμένη φαρμακευτική πρόκληση ωοθυλακιόρρηξίας και ήπια ωοθηκική διέγερση. Συγκεκριμένα, ο σύντροφος δίνει σπέρμα δύο ώρες περίπου πριν την πραγματοποίηση τα σπερματέγχυσης. Είναι απαραίτητο να υπάρχει αποχή από προηγούμενη εκσπερμάτωση, η οποία όμως δεν θα πρέπει να είναι πάνω από δύο με τρία εικοσιτετράωρα. Μετά, ο εμβρυολόγος επεξεργάζεται ειδικά και κάνει τον διαχωρισμό σπερματικού υγρού από τα σπερματοζώαρια και επιλέγει τα καλύτερα ποιοτικά, δηλαδή αυτά που έχουν την καταλληλότερη μορφολογία και κινητικότητα. Έπειτα, τοποθετεί το επεξεργασμένο σπέρμα στην κοιλότητα της μήτρας. Με αυτή την διαδικασία είναι πιο προσιτό για τα σπερματοζώαρια να προσεγγίσουν τα ωάρια στις σάλπιγγες και να καταλήξουμε στην γονιμοποίηση τους. [ΜΟΝΑΔΑ ΥΠΟΒΟΗΘΟΥΜΕΝΗΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΓΕΝΕΣΙΣ ΚΡΗΤΗΣ], [EMBRYOLABFERTILITYCLINIC, 2012]



Εικόνα 3. Ενδομήτρια Σπερματέγχυση



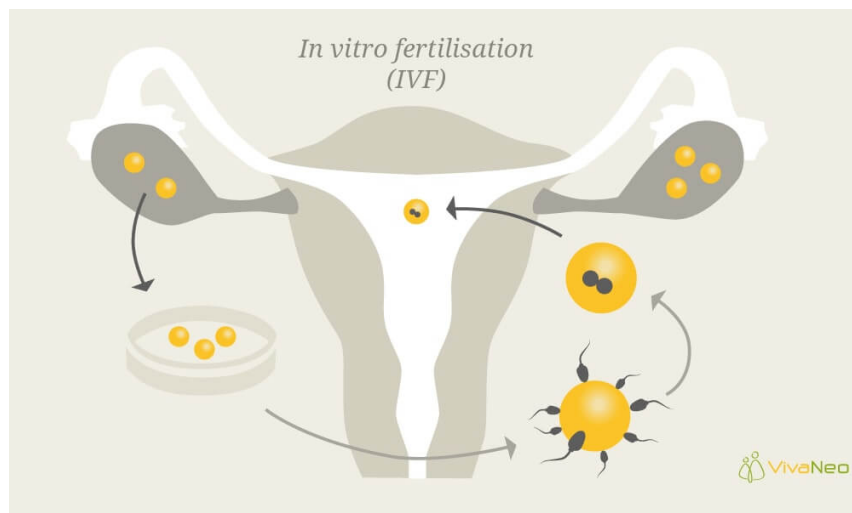
Εικόνα 4. Ενδομήτρια Σπερματέγχυση

### *ΕΞΩΣΩΜΑΤΙΚΗ ΓΟΝΙΜΟΠΟΙΗΣΗ (IN VITRO FERTILIZATION/IVF)*

Είναι η πιο διαδεδομένη μέθοδος υποβοηθούμενης αναπαραγωγής. Έχει τα εξής στάδια:

1. Ωοθηκική διέγερση μέσω της χορήγησης φαρμάκων για την ανάπτυξη περισσότερων ωοθυλακίων.
2. Ωοληψία
3. Η επίτευξη της γονιμοποίησης μέσω της τοποθέτησης των σπερματοζωαρίων και των ωαρίων σε καλλιεργητικό μέσο, το οποίο είναι κατάλληλο για την περίπτωση.
4. Καθημερινός έλεγχος των γονιμοποιημένων ωαρίων, τα οποία επωάζονται σε κατάλληλο καλλιεργητικό υλικό. Είναι σημαντικό να παρατηρείται η εμβρυϊκή τους ανάπτυξη, καθώς και η εξέλιξη τους (αν είναι φυσιολογική ή όχι).
5. Μεταφορά των κατάλληλων γονιμοποιημένων ωαρίων που έχουν αναπτυχθεί σωστά για την εμφύτευση μέσα στην μήτρα. **[Αναστασάκης, 2013]**

Η Louise Brown ήταν η πρώτη επιτυχία σε αυτή την προσπάθεια το 1978. Ονομάστηκε «test-tube baby» (το παιδί του σωλήνα) και ήταν το πρώτο παιδί στην ιστορία που γεννήθηκε με την εφαρμογή της εξωσωματικής γονιμοποίησης και εμβρυομεταφοράς. Η εξωσωματική είναι αποδεδειγμένα η πιο κατάλληλη εναλλακτική για τα ζευγάρια που είναι υπογόνιμα, παρόλο που μπορεί να αντιμετωπίσει διάφορα αίτια όπου τα ωάρια γονιμοποιούνται από τα σπερματοζωάρια στον χώρο του εργαστηρίου.



Εικόνα 5. Εξωσωματική Γονιμοποίηση



Εικόνα 6. Εξωσωματική Γονιμοποίηση



## ΜΙΚΡΟΓΟΝΙΜΟΠΟΙΗΣΗ (ICSI/INTRACYTOPLASMICSPERMINJECTION)

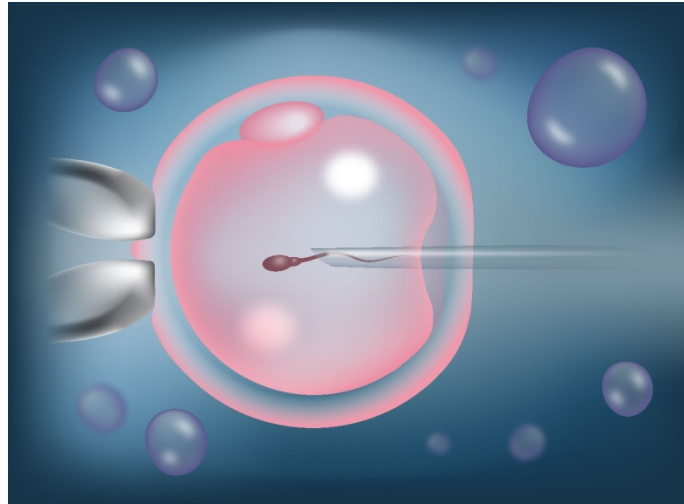
Από το 1992 ξεκινάει η εφαρμογή της με μεγάλη επιτυχία και χρησιμοποιείται όταν τα σπερματοζωάρια δεν είναι άριστης ποιότητας, όπως και στα ζευγάρια τα οποία αντιμετώπιζαν προηγούμενες αποτυχίες εξωσωματικής γονιμοποίησης. Τις περισσότερες φορές, αφορά περιπτώσεις του μικρού αριθμού των σπερματοζωαρίων ή την χαμηλή τους κινητικότητα. Η συλλογή των ωαρίων γίνεται σύμφωνα με την διαδικασία που ακολουθείται στην κλασική εξωσωματική γονιμοποίηση (IVF). Έπειτα, μέσω ενός ειδικού μικροσκοπίου γίνεται μία μικρή τρύπα στο ωάριο όπου τοποθετείται το σπερματοζωάριο το οποίο πρώτα έχει επεξεργασθεί κατάλληλα. Η επεξεργασία αυτή διασφαλίζει μεγαλύτερη πιθανότητα γονιμοποίησης. Όταν επέλθει η γονιμοποίηση, το γονιμοποιημένο ωάριο ωριμάζει μέσα στο εργαστήριο για 1-5 ημέρες, πριν γίνει η εμβρυομεταφορά. Η τεχνική της μικρογονιμοποίησης ICSI είναι κατάλληλη όταν:

- Το σπέρμα είναι ασθενές και παρουσιάζει χαμηλή κινητικότητα
- Τα σπερματοζωάρια δεν διαθέτουν ακρόσωμα, το οποίο είναι ένα τμήμα του κεφαλιού, έτσι ώστε να μην είναι ικανά να εισέλθουν στο ωάριο
- Όταν τα ωάρια έχουν πιο σκληρή και παχιά διάφανη ζώνη, το οποίο δυσκολεύει την διείσδυση του σπερματοζωαρίου
- Όταν έχει προϋπάρξει προσπάθεια εξωσωματικής γονιμοποίησης IVF η οποία δεν ήταν επιτυχημένη

Με αυτή την διαδικασία ICSI το ποσοστό μίας επιτυχημένης εγκυμοσύνης ανέρχεται στο 65-75%, το οποίο εξαρτάται από πολλούς παράγοντες, μεταξύ των οποίων είναι:

- Η βιωσιμότητα των σπερματοζωαρίων
- Η ποιότητα και η αποτελεσματική ενεργοποίηση των ωαρίων
- Η βιωσιμότητα των ωαρίων κατά την ενδοκυτταροπλασματική διαδικασία [Δρ. Καραντζής]

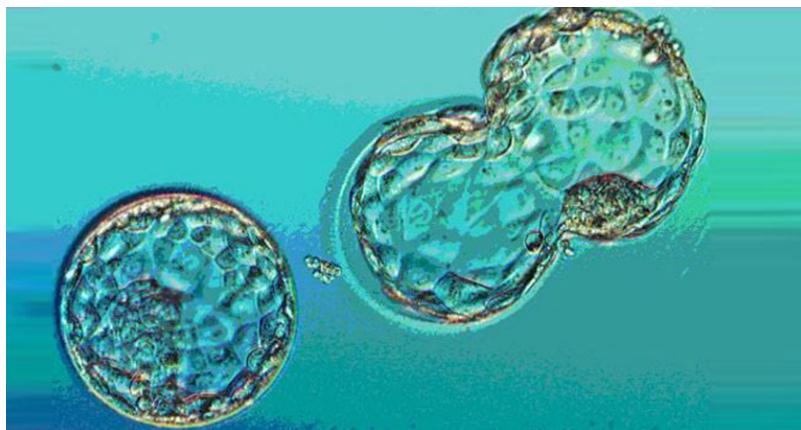




Εικόνα 7. Μικρογονιμοποίηση

### *ΥΠΟΒΟΗΘΟΥΜΕΝΗ ΕΚΚΟΛΑΨΗ (ASSISTED HATCHING)*

Σύμφωνα με την τεχνική υποβοηθούμενης εκκόλαψης δημιουργείται πριν την εμβρυομεταφορά μία τρύπα στην διάφανη ζώνη των εμβρύων για να ακολουθήσει η εμφύτευση τους στην μήτρα. Αναλυτικότερα, το έμβryo στην αρχή της ανάπτυξης του περιβάλλεται από μια διάφανη ζώνη, μέχρι το στάδιο της βλαστοκύστης. Προκειμένου να επιτευχθεί η εμφύτευση, πρέπει να γίνει η ρήξη της διαφανούς ζώνης και το πρώτο έμβryo να εξέλθει από αυτήν. Κάποιες φορές η διαφανής ζώνη είναι σκληρή ή παχιά (πχ γυναίκες με μεγάλη ηλικία έχουν τέτοιου είδους έμβρυα), οπότε το έμβryo δεν μπορεί να εξέλθει από την διάφανη ζώνη. Επομένως, να μην μπορεί να εμφυτευθεί στα τοιχώματα της μήτρας. Τότε, αυτή η τεχνική είναι η κατάλληλη.



Εικόνα 8. Υποβοηθούμενη εκκόλαψη με laser

## ΚΡΥΟΣΥΝΤΗΡΗΣΗ ΕΜΒΡΥΩΝ/ ΕΜΒΡΥΟΜΕΤΑΦΟΡΑ ΑΠΟΨΥΧΘΕΝΤΩΝ ΕΜΒΡΥΩΝ

Σε κάποιες περιπτώσεις είναι καλύτερο τα έμβρυα τα οποία θα προκύψουν έπειτα από τον κύκλο της εξωσωματικής (IVF), να μην εμφυτευθούν κατευθείαν στο εσωτερικό της μήτρας. Έτσι, διατηρούνται με τη διαδικασία της κρυοσυντήρησης σε χαμηλές θερμοκρασίες (-196°C) και παραμένουν αμετάβλητα για πολύ καιρό. Με αυτό τον τρόπο, προγραμματίζεται η απόψυξη και έπειτα η εμφύτευση στη μήτρα των κρυοσυντηρημένων εμβρύων σε επόμενο κύκλο εξωσωματικής. Έτσι, σχεδιάζεται η εμβρυομεταφορά των αποψυχθέντων εμβρύων στο μέλλον, όταν το περιβάλλον του ενδομήτριου θα είναι πιο ευνοϊκό. Είναι μία μέθοδος η οποία εξασφαλίζει μία δεύτερη ευκαιρία στο ζευγάρι με την οποία καταψύχουμε τα πλεονάζοντα, καλής ποιότητας έμβρυα, δηλαδή αυτά που δεν μεταφέρονται στη μήτρα της γυναίκας. Επιτελείται δηλαδή μία δεύτερη εμβρυομεταφορά, εάν η πρώτη δεν είναι επιτυχής ή ακόμα δίνεται η δυνατότητα απόκτησης δεύτερου παιδιού χωρίς να χρειαστεί να γίνει εκ νέου διέγερση των ωοθηκών ή ωοληψία. Επίσης, η κρυοσυντήρηση αποτελεί εναλλακτική μέθοδο, όταν υπάρχει κίνδυνος εμφάνισης συνδρόμου υπερδιέγερσης των ωοθηκών (OHSS). Σε αυτήν την περίπτωση, καταψύχονται όλα τα έμβρυα και όταν η γυναίκα ξεπεράσει τον κίνδυνο αποψύχονται και πραγματοποιείται η εμβρυομεταφορά. Η κρυοσυντήρηση σπέρματος προτείνεται στις εξής περιπτώσεις:

- Υποχρεωτικής απουσίας του συζύγου την ημέρα της ωοληψίας.
- Προγραμματισμένης χημειοθεραπείας, ακτινοθεραπείας ή ακόμα και αφαίρεσης όρχεως σε περιπτώσεις νεοπλασματικών νόσων, έτσι ώστε να αντιμετωπιστεί ο κίνδυνος απώλειας της αναπαραγωγικής ικανότητας του άνδρα.
- Σε προοδευτική πτώση των παραμέτρων του σπέρματος.
- Έπειτα από βιοψία όρχεως, εφόσον υπάρχει περίσσεια σπερματοζωαρίων, έτσι ώστε να μη χρειαστεί να υποβληθεί ο ασθενής σε νέα χειρουργική επέμβαση.
- Όταν υπάρχει δυσκολία λήψης του δείγματος για ψυχολογικούς λόγους ή όταν η λήψη γίνεται με ηλεκτροδιέγερση. [DR. MALPANI,2022]



Εικόνα 9. Κρυοσυντήρηση

### ΚΡΥΟΣΥΝΤΗΡΗΣΗ ΩΑΡΙΩΝ

Μία σχετικά καινούρια μέθοδος είναι η λήψη ωαρίων για κρυοσυντήρηση. Είναι απαραίτητο πρώτα για να ωριμάσουν πολλά ώαρια να διεγερθούν οι ωοθήκες όπως γίνεται και στην εξωσωματική γονιμοποίηση. Αυτή την πρακτική την εφαρμόζουν οι γυναίκες που θέλουν να διατηρήσουν την γονιμότητα τους για το μέλλον, όπως όταν υπάρχει κάποια κακοήθεια ή άλλοι προσωπικοί λόγοι. [DR. MALPANI,2022],[ΝΙΚΟΛΟΠΟΥΛΟΣ. 2015]

### ΥΑΛΟΠΟΙΗΣΗ

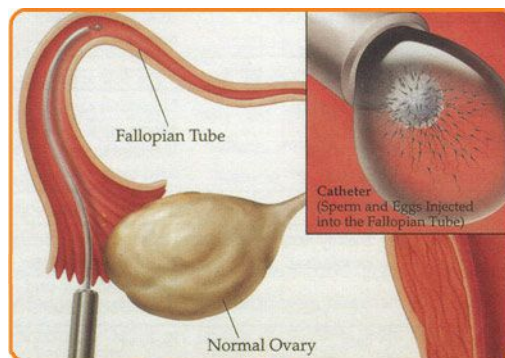
Η υαλοποίηση είναι μία καινούρια τεχνική που ψύχει τα ώαρια πολύ γρήγορα με υψηλότερη συγκέντρωση κρυοπροστατευτικών. Έχει πολύ καλύτερα αποτελέσματα διατήρησης στην κατάψυξη των εμβρύων και των ωαρίων για πολύ καιρό. Συγκεκριμένα, τα ώαρια που καταψύχονται είναι στο στάδιο της Μετάφασης II, της δεύτερης μειωτικής διαίρεσης του κυτταρικού κύκλου. Έτσι, προστίθενται σε ειδικό υλικό κρυοσυντήρησης με εξαιρετικά υψηλή συγκέντρωση κρυοπροστατευτικού και με ταχύτατους χειρισμούς εμβαπτίζονται σε υγρό άζωτο με αποτέλεσμα τη μετάβασή τους σε υαλώδη φάση. Με τον τρόπο αυτό αποτρέπεται η δημιουργία κρυστάλλων πάγου στο εσωτερικό των κυττάρων που οδηγεί σε κυτταρικό θάνατο. Τέλος, ασφαρίζονται σε δοχεία που περιέχουν υγρό άζωτο έως ότου τα χρησιμοποιήσουν. [DR. MALPANI,2022]



Εικόνα 10. Υαλοποίηση

### *ΕΝΔΟΣΑΛΠΙΓΓΙΚΗΜΕΤΑΦΟΡΑΓΑΜΕΤΩΝΉΖΥΓΩΤΗ (GIFT, ZIFT: gamete or zygoteintrafallopian transfer)*

Όπως συμβαίνει και στην εξωσωματική γονιμοποίηση, γίνονται οι ακόλουθες διαδικασίες: πρώτα, η συλλογή ωαρίων από την γυναίκα, τα οποία μετά γονιμοποιούνται με το σπέρμα σε συνθήκες εργαστηρίου. Σε αυτή την τεχνική (GIFT) τα έμβρυα υποβάλλονται λίγες ώρες αργότερα σε λαπαροσκόπηση σε αντίθεση με την κλασική εξωσωματική γονιμοποίηση, όπου τα έμβρυα παρατηρούνται και μεγαλώνουν σε ένα εργαστήριο για 3 έως 5 ημέρες. Έπειτα, τοποθετούνται ωάρια και σπέρμα μέσα στον αυλό της σάλπιγγας της γυναίκας, ώστε να πραγματοποιηθεί η γονιμοποίηση εντός της. Αντίθετα, στην τεχνική ZIFT, πραγματοποιείται η γονιμοποίηση στο εργαστήριο και στην συνέχεια η γυναίκα υποβάλλεται σε λαπαροσκοπική επέμβαση την επόμενη ημέρα προκειμένου να γίνει η τοποθέτηση των πρώιμων εμβρύων στη σάλπιγγα.



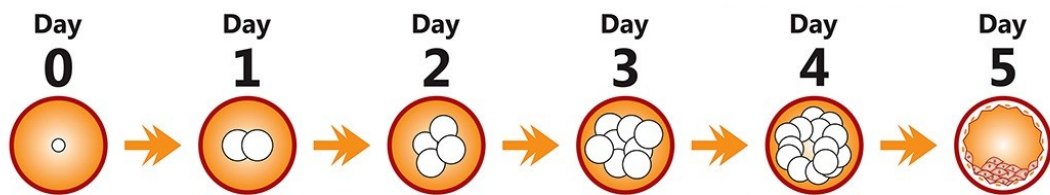
Εικόνα 11. GIFT

## ΜΙΚΡΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΛΗΨΗ ΣΠΕΡΜΑΤΟΖΩΑΡΙΩΝ

Σε περιπτώσεις, όπου ο άνδρας εμφανίζει αζωοσπερμία, είναι εφικτό να ληφθούν με μικροχειρουργικές διαδικασίες σπερματοζωάρια. Οι μέθοδοι αναρρόφησης σπερματοζωαρίων γίνεται από την επιδιδυμίδα με τις τεχνικές (PESA, MESA) ή τους όρχεις (TESA). Πλέον, θεωρείται περισσότερο αποτελεσματική σαν μέθοδος ανεύρεσης σπερματοζωαρίων, η βιοψία όρχεως (TESE) αφού έχει λιγότερες επιπλοκές και καλύτερα αποτελέσματα. Έπειτα, γονιμοποιείται το ωάριο με ICSI, το οποίο έχει ληφθεί από την γυναίκα.

## ΠΡΟΕΜΦΥΤΕΥΤΙΚΗ ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ (PGD-PRE IMPLANTATION GENETIC DIAGNOSIS)

Όταν και οι δύο υποψήφιοι γονείς είναι φορείς κάποιας σοβαρής γενετικής ασθένειας και υπάρχει μεγάλη πιθανότητα να κληρονομηθεί και στο έμβρυο, ή το ζευγάρι έχει περάσει αρκετά χρόνια υπογονιμότητας και η μητέρα είναι σε μεγαλύτερη ηλικία, χρησιμοποιείται η συγκεκριμένη τεχνική. Αφού εφαρμόζεται το PGD, με την εξωσωματική γονιμοποίηση μεταφέρονται στην μήτρα τα υγιή έμβρυα.



Εικόνα 12. Προεμφυτευτική γενετική διάγνωση



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

### ΣΥΣΤΑΣΗ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ ΥΠΟΒΟΗΘΟΥΜΕΝΗΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗΣ



Εικόνα 13. Διακλαδική μονάδα ιατρικώς υποβοηθούμενης αναπαραγωγής στο ΝΝΑ

Για να δημιουργηθεί και να τοποθετηθεί ένα εργαστήριο γενετικής με ειδικότητα στην διερεύνηση της υπογονιμότητας είναι απαραίτητα τα παρακάτω τμήματα:

1. **ΕΜΒΡΥΟΛΟΓΙΚΟ** ( ΩΟΛΗΨΙΑ, IVF, ICSI, ΕΛΕΓΧΟΣ ΓΟΝΙΜΟΠΟΙΗΣΗΣ ΚΑΙ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΕΜΒΡΥΩΝ, ΚΑΤΑΨΥΞΗ ΩΑΡΙΩΝ ΚΑΙ ΕΜΒΡΥΩΝ, ΕΜΒΡΥΟΜΕΤΑΦΟΡΑ, ΒΙΟΨΙΑ ΕΜΒΡΥΩΝ ΓΙΑ PGD, ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΚΑΛΛΙΕΡΓΗΤΙΚΩΝ ΥΓΡΩΝ)
2. **ΣΠΕΡΜΑΤΟΣ**( ΣΠΕΡΜΟΔΙΑΓΡΑΜΜΑ, ΚΑΤΑΨΥΞΗ ΣΠΕΡΜΑΤΟΣ, ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΣΠΕΡΜΑΤΟΣ ΓΙΑ IVF, ICSI)
3. **ΚΑΤΑΨΥΞΗΣ/ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗΣ ΚΑΤΕΨΥΓΜΕΝΩΝ** ( ΜΗΧΑΝΗΜΑ ΑΡΓΗΣ ΚΑΤΑΨΥΞΗΣ ΕΜΒΡΥΩΝ, ΔΟΧΕΙΟ ΥΓΡΟΥ ΑΖΩΤΟΥ ΓΙΑ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ ΚΑΤΕΨΥΓΜΕΝΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ)
4. **ΠΡΟΕΜΦΥΤΕΥΤΙΚΟΥ ΕΛΕΓΧΟΥ PGD**

## ΤΜΗΜΑ ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗΣ

Στο Τμήμα Κυτταρογενετικής θα γίνεται η ανάλυση των χρωμοσωμάτων του υπό-γόνιμου ζεύγους, δηλαδή θα αναλύεται ο καρυότυπος. Αρχικά, θα καλλιεργούνται τα λευκοκύτταρα του περιφερικού αίματος και έπειτα, θα απομονώνονται τα χρωμοσώματα, τα οποία θα περνάνε από ανάλυση στο μικροσκόπιο υπό μεγέθυνση x1000. Από τα αποτελέσματα της κυτταρογενετικής ανάλυσης θα εξαρτηθεί και η συνέχεια της διερεύνησης και η πορεία της υποβοηθούμενης αναπαραγωγής.

Εάν παρατηρείται κάποια ισοζυγισμένη μετάθεση ή αναστροφή κάποιου χρωμοσώματος στην κυτταρογενετική ανάλυση του καρυότυπου, σε ένα από το ζεύγος, τότε θα ξεκινήσει η διαδικασία της υποβοηθούμενης αναπαραγωγής και όταν το έμβρυο φτάσει στο στάδιο των 3 ημερών, δηλαδή όταν θα αποτελείται από 8 κύτταρα ή αλλιώς 8 βλαστομερίδια ή στο στάδιο των 5 ημερών (βλαστοκύστη), ο εμβρυολόγος θα κάνει βιοψία, ένα βλαστομερίδιο ή έως και 10 κύτταρα αντίστοιχα. Θα ακολουθήσει ανάλυση των εμβρυικών κυττάρων με την μέθοδο array CGH και μόνο τα φυσιολογικά και γενετικά ισοζυγισμένα έμβρυα είναι αυτά που τελικά θα διαλέξει για να εμφυτευθούν στην μήτρα.

Ένα ακόμα σύνηθες γενετικό πρόβλημα του καρυότυπου είναι να βρεθεί ότι ο σύζυγος φέρει ένα επιπλέον X χρωμόσωμα (Klinefelter Syndrome), γεγονός που τον καθιστά ολιγοσπερμικό ή και αζωοσπερμικό. Σε αυτή την περίπτωση, η μόνη λύση για να τεκνοποιήσει το ζευγάρι αυτό είναι μέσω βιοψίας όρχεων, έπειτα σε απομόνωση σπέρματος από την βιοψία και κατόπιν σε εξωσωματική γονιμοποίηση.

## ΤΜΗΜΑ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗΣ

Στο Τμήμα Μοριακής Κυτταρογενετικής θα διεκπεραιώνεται η ανάλυση του σπερματικού υγρού με τη μέθοδο Fluorescent in situ hybridization (FISH). Σε περίπτωση που ο 5ο καρυότυπος, του ζεύγους εμφανίζει φυσιολογικά αποτελέσματα, τότε γίνεται διερεύνηση ποσοστού ανευπλοειδιών (υπεράριθμων χρωμοσωμάτων) στα σπερματοζωάρια, κάτι το οποίο θα σήμαινε ότι ο σύζυγος έχει πρόβλημα στον διαχωρισμό των χρωμοσωμάτων του κατά την κυτταρική διαίρεση και κατά την μείωση. Κατ' αποτέλεσμα, αυτός ο μη διαχωρισμός των χρωμοσωμάτων του, θα δημιουργήσει ανευπλοειδή έμβρυα (έμβρυα με υπεράριθμο χρωμόσωμα), τα οποία είτε θα αποβάλλονται κατά τους πρώτους μήνες της κύησης, δεδομένο που θα εξηγεί την υπό-γονιμότητα του ζεύγους, είτε θα οδηγεί σε παθολογική κύηση. Επιπλέον, ένας άλλος παράγοντας που προκαλεί, αζωοσπερμία είναι ο σύζυγος να έχει κάποια απώλεια γενετικού υλικού στην περιοχή AZFa,b,c του Y χρωμοσώματος, που είναι υπεύθυνη για την παραγωγή του σπέρματος, ή να είναι φορέας ινοκυστικής νόσου τα άτομα που πλήττονται από την οποία πάσχουν από ολιγοσπερμία ή αζωοσπερμία.

## ΤΜΗΜΑ ARRAYS CGH- ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗΣ

Το τμήμα Arrays CGH- Μοριακής Κυτταρογενετικής όπου θα διεκπεραιώνεται η διάγνωση του εμβρύου PGD προτού αυτό εμφυτευτεί στην μήτρα, δηλαδή η ανάλυση των χρωμοσωμάτων του βλαστομεριδίου (εμβρυϊκού κύτταρου) με την τεχνική των array CGh, θα χρησιμοποιείται στις εξής περιπτώσεις:

- α) Σε περίπτωση που ένας από τους γονείς είναι φορέας ισοζυγισμένης μετάθεσης και
- β) Σε περίπτωση που το ζεύγος έχει ιστορικό πολλαπλών αποβολών (από 3 και άνω).

Η προεμφυτευτική γενετική διάγνωση (PGD), είχε προταθεί σαν μια μέθοδος για την βελτίωση του ποσοστού των επιτυχημένων εξωσωματικών, καθώς γίνεται διαχωρισμός των φυσιολογικών εμβρύων από τα χρωμοσωματικά παθολογικά έμβρυα (δυσνητικά θανατηφόρες μορφές χρωμοσωματικών ανευπλοειδίων), με στόχο:

- α) Την αύξηση του ποσοστού εμφύτευσης των εμβρύων και το ποσοστό εγκυμοσύνης για τα υπογόνιμα ζευγάρια
- β) Την ελάττωση του χρόνου που θα χρειαστεί ένα ζευγάρι για να επιτύχει μια εγκυμοσύνη, αφού θα μεταφερθούν στην μήτρα μόνο τα φυσιολογικά έμβρυα τα οποία έχουν πολλές περισσότερες πιθανότητες να εμφυτευτούν και να επιτύχει η εγκυμοσύνη
- γ) Τη μείωση της συχνότητας των αποβολών και
- δ) Τη μείωση του κινδύνου εμφάνισης ανευπλοειδίων, η οποία είναι μια χρωσωμική κατάσταση που αναγνωρίζεται ως ένας σημαντικός παράγοντας που συμβάλλει στην αποτυχία εμφύτευσης και στην αποβολή.

Οι Ανευπλοειδίες είναι κοινές στα αρχικά στάδια των ανθρώπινων εμβρύων. Τα ανευπλοειδικά έμβρυα αντιπροσωπεύουν ποσοστό  $\geq 10\%$  των ανθρώπινων κυήσεων, και για τις γυναίκες που πλησιάζουν στο τέλος της αναπαραγωγικής τους ηλικίας η επίπτωση αυτών μπορεί να υπερβαίνει το 50%.

Ως εκ τούτου, τα ανευπλοειδικά έμβρυα είναι πιθανό να είναι ο κύριος παράγοντας που ευθύνεται για την ταυτόχρονη μείωση στα ποσοστά εμφύτευσης σε σχέση με την ηλικία της μητέρας.



## ΤΜΗΜΑ ΜΟΡΙΑΚΗΣ

Το τμήμα Μοριακής σε περίπτωση που στην οικογένεια του ζεύγους (είτε από την πλευρά της μητέρας είτε από την πλευρά του πατέρα) υπάρχει κάποιο κληρονομικό νόσημα όπως μεσογειακή αναιμία ή κάποια κληρονομική νεοπλασία ή κυστική ίνωση ή κάποια μυϊκή δυστροφία είτε οποιαδήποτε άλλη κληρονομική νόσος, τότε πραγματοποιείται ανάλυση του εμβρυικού DNA για τη μετάλλαξη που προκαλεί την κληρονομική νόσο, και μόνον τα έμβρυα που δεν φέρουν τη μετάλλαξη επιλέγονται για εμφύτευση στην μήτρα.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

### ΚΑΤΑΓΡΑΦΗ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΩΝ ΜΗΧΑΝΗΜΑΤΩΝ ΜΟΝΑΔΑΣ ΥΠΟΒΟΗΘΟΥΜΕΝΗΣ

#### *ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗΣ*

Ο χώρος του εργαστηρίου κυτταρογενετικής πρέπει να περιέχει τρία δωμάτια. Το δωμάτιο για τις κυτταροκαλλιέργειες, το δωμάτιο για την συγκομιδή των κύτταρων και την απομόνωση των χρωμοσωμάτων και το δωμάτιο για την ανάλυση των χρωμοσωμάτων. Ο απαραίτητος εξοπλισμός του εργαστηρίου αποτελείται από τις αντίστοιχες εξετάσεις που διενεργούνται:

#### **1. ΓΙΑ ΤΙΣ ΚΥΤΤΑΡΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ:**

- **Cell culture hoods (Laminar Flow)- Απαγωγός**

Είναι το βασικό κομμάτι του εξοπλισμού. Είναι ουσιαστικά η προστασία της καλλιέργειας από τον χειριστή από παθογόνους μικροοργανισμούς, όπως και κάποιες φορές και του ανάστροφου. Ονομάζεται και θάλαμος νηματικής ροής. Είναι απορροφητήρες με αδιάκοπη, ομαλή και βελτιωμένη ροή (laminarflow) αποστειρωμένου αέρα, ο οποίος πρώτα έχει φιλτραριστεί μέσω HEPA. Η ροή του αέρα είναι κάθετη ή οριζόντια. Χώριζεται σε κλάσης I και σε κλάσης II:

- ✓ ΚΛΑΣΗ I: ΠΡΟΣΤΑΣΙΑ ΧΡΗΣΤΗ ΚΑΙ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ, ΟΧΙ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ (δεν ενδείκνυται και κυτταροκαλλιέργειες)
- ✓ ΚΛΑΣΗ II: ΠΡΟΣΤΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ, ΧΡΗΣΤΗ ΚΑΙ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ (είναι απαραίτητο για τα μολυσματικά δείγματα)

ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΟΣ ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΕΝΟΣ ΚΕΝΤΡΟΥ ΥΠΟΒΟΗΘΟΥΜΕΝΗΣ  
ΓΟΝΙΜΟΠΟΙΗΣΗΣ



Εικόνα 14. Esco Technologies Laminar Flow Vertical 4FT AVC-4D2



Εικόνα 15. FBH-10 Laminar Flow Hood with lead glass

• Δύο επωαστήρες με σταθερή θερμοκρασία στους 37 βαθμούς (Incubator)

Είναι θάλαμοι απόλυτα ελεγχόμενης θερμοκρασίας και ατμόσφαιρας για την καλλιέργεια ωαρίων και εμβρύων. Θερμοκρασία στους 37 C, 5-10% CO<sub>2</sub>, 99% σχετική υγρασία. Σημαντική η παρουσία CO<sub>2</sub> (5%) για την διατήρηση του pH μεταξύ 7,2- 7.4



Εικόνα 16. Lichen Heated Incubator



Εικόνα 17. Dual Chamber Refrigerated Incubator

- **Στερεοσκόπιο**

Είναι χρήσιμο για όλους τους χειρισμούς ωαρίων και εμβρύων. Συγκεκριμένα για την διαδικασία της ωοληψίας, την μετακίνηση των ωαρίων και εμβρύων, τον καθαρισμό ωαρίων για ICSI, την φόρτωση των εμβρύων στον καθετήρα εμβρυομεταφοράς αλλά και την απλή παρατήρηση τους.



Εικόνα 18. Επαναφορτιζόμενο Στερεοσκόπιο 20x 40x με λαβή

- **Ανάστροφο μικροσκόπιο με χειριστήρια για μικρογονιμοποίηση**

Τα ανάστροφα μικροσκόπια χρησιμοποιούνται συχνά για την παρατήρηση κυτταρικών και / ή καλλιεργείων ιστού σε τρυβλία. Η παρατήρηση μπορεί να γίνει κάτω από πιο φυσικές συνθήκες από ότι σε μία αντικειμενοφόρο πλάκα. Η πηγή φωτός και ο συμπυκνωτής τοποθετούνται στην κορυφή του μικροσκοπίου πάνω από τη τράπεζα, ενώ οι αντικειμενικοί φακοί και ο υποδοχέας τους τοποθετούνται κάτω από αυτήν. Με αυτό το μικροσκόπιο γίνεται η αξιολόγηση ποιότητας των ωαρίων και της διαδικασίας της γονιμοποίησης, όπως των διαιρέσεων και της ποιότητας των εμβρύων.



Εικόνα 19. Ανάστροφο Μικροσκόπιο OxionInverso

*“Γενικά, οι καλλιέργειες κυττάρων στο εργαστήριο, είναι η ανάπτυξη των κυττάρων σε απόλυτα ελεγχόμενες συνθήκες εργαστηρίου που μας δίνουν την δυνατότητα για μια συνεχή παροχή βιολογικού υλικού για τις μελέτες. Είναι μία τεχνική που περιλαμβάνει την απομόνωση και την διατήρηση/πολλαπλασιασμό In vitro των κυττάρων που απομονώνονται από ιστούς ή ολόκληρα όργανα που προέρχονται από ζώα, μικρόβια ή φυτά.”*

### **ΒΑΣΙΚΕΣ ΑΡΧΕΣ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ**

Η κυτταρική καλλιέργεια διέπεται από τις εξής αρχές:

1. Αποστειρωμένη καθαρή καλλιέργεια κυττάρων
2. Κατάλληλες ασηπτικές τεχνικές (aseptic techniques)
  - Εργαστηριακός εξοπλισμός
  - Καλές τεχνικές (good cell culture techniques)

Αποστείρωση απαγωγού με UV και 70% EtOH, αποστείρωση υλικών και δ/ματων με UV, 70% EtOH ή στον κλίβανο (autoclave), προσεκτικός χειρισμός στην απαγωγή. Συγκεκριμένα, η εργασία πρέπει να γίνεται με το κεφάλι όσο πιο μακριά από ανοιχτά δοχεία και είναι αναγκαία η χρήση αυτόματων πιπετών. Εργασία σε laminarflow ή κοντά σε λύχνο Bunsen και πρέπει τα δοχεία και οι φιάλες να καθαρίζονται εξωτερικά με αιθανόλη 70. Το άκρο των πιπετών πρέπει να δείχνει πάντα προς τα εμπρός, χωρίς να αγγίζεται η βαθμονομημένη περιοχή. Τα καπάκια πρέπει να χαλαρώνονται πριν χρησιμοποιηθούν οι πιπέτες αλλά και να μην υπάρχουν γύρω σταγόνες υλικού ή άλλου υγρού που μπορεί να αναπτυχθούν μικροοργανισμοί.

3. Χρήση κατάλληλων συνθηκών για βέλτιστη ανάπτυξη των κυττάρων
  - Εργαστηριακός εξοπλισμός
  - Θρεπτικά μέσα

## **2. ΓΙΑ ΤΗ ΣΥΓΚΟΜΙΔΗ ΤΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΚΑΙ ΤΗΝ ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΤΩΝ ΧΡΩΜΟΣΩΜΑΤΩΝ:**

- Ένα θάλαμο εργασίας με εξαερισμό και φίλτρα για τα χημικά (fumehood)
- Μία φυγόκεντρο

Είναι ένα όργανο το οποίο χρησιμοποιεί φυγοκεντρική δύναμη για να διαχωρίσει διάφορα συστατικά ενός υγρού. Περιστρέφει το ρευστό με μεγάλη ταχύτητα σε ένα δοχείο, διαχωρίζοντας έτσι ρευστά διαφορετικής πυκνότητας ή υγρά από στερεά. Οι φυγόκεντροι λειτουργούν με την αρχή της καθίζησης. Στην συγκεκριμένη περίπτωση, η φυγόκεντρος είναι απαραίτητη για την απομόνωση των λευκοκυττάρων.



Εικόνα 20. Κυτταροφυγόκεντρος CYTOSPIN 4



Εικόνα 21. RotoSilenta 630RS Centrifuge from Hettich

● Ένα υδατόλουτρο

Τα υδατόλουτρα κατατάσσονται στις πρώτες μεθόδους επώασης. Είναι χρήσιμα σε κλινικά και βιομηχανικά εργαστήρια, σε εργαστήρια που ασχολούνται με την έρευνα για το περιβάλλον, σε ακαδημαϊκά εργαστήρια αλλά και σε τεχνολογίας τροφίμων και μονάδες επεξεργασίας λυμάτων. Εφαρμόζονται σε αναλύσεις βακτηρίων και μικροβίων και παγόλυση δειγμάτων, τη θέρμανση αντιδραστηρίων, τον καθορισμό κολοβακτηριδίων. Ακόμα χρησιμοποιούνται την επεξεργασία τροφίμων και τον έλεγχο ποιότητας τους. Είναι εφικτό σε αυτές τις συσκευές να ενσωματώσει ο τεχνικός διάφορα εξαρτήματα για να επιτελεί διάφορες λειτουργίες. Αρχικά, διαχωρίζονται σε ψηφιακά και αναλογικά υδατόλουτρα. Τα ψηφιακού τύπου λουτρά μπορούν να εξασφαλίσουν μεγαλύτερη ομοιομορφία θερμοκρασίας για μεγαλύτερη διάρκεια και διαθέτουν και δυνατότητες προγραμματισμού της λειτουργίας τους λόγω της ύπαρξης μικροεπεξεργαστή. Αυτό σημαίνει ότι υπάρχει η δυνατότητα επιλογής της θερμοκρασίας με ακριβέστερη διαβάθμιση, δυνατότητα χρήσης χρονοδιακόπτη, καθώς και την ύπαρξη πολλαπλών συστημάτων ασφαλείας, όπως θερμοστάτες τελευταίας τεχνολογίας, δείκτες της στάθμης του νερού και διάφορους συναγερμούς. Για τις εφαρμογές όπου η δεκαδική ακρίβεια δεν είναι τόση σημαντική, προτιμούνται τα αναλογικά, διότι είναι πιο εύκολα στην χρήση.

Σε δεύτερο χρόνο, οι επιλογές που προσφέρονται διαφέρουν σε ό,τι αφορά την ύπαρξη κυκλοφορητή ή μη, τη λειτουργία ψύξης του λουτρού ή μη, τη λειτουργία ανακίνησης, το υλικό κατασκευής της δεξαμενής και του εξωτερικού, την ύπαρξη πολλαπλών θαλάμων, την επίτευξη εξαιρετικά υψηλών θερμοκρασιών και τέλος τις διαστάσεις της συσκευής. Ενδεικτικά οι θερμοκρασίες ενός κοινού ψηφιακού υδατόλουτρου χωρίς ψύξη, ή κυκλοφορητή μπορούν να κυμαίνονται από +5°C έως και +100°C με ομοιομορφία  $\pm 0,1^\circ\text{C}$ , ενώ οι χωρητικότητες μπορούν να κυμαίνονται από 6 έως και 45 λίτρα. Είναι συνήθως κατασκευασμένα από ανοξείδωτο χάλυβα τύπου 304 και διαθέτουν ειδικό καπάκι το οποίο εμποδίζει την απώλεια θερμότητας και βοηθά στη διατήρηση της σταθερότητας και της ομοιομορφίας της θερμοκρασίας. Οι συσκευές που διαθέτουν κυκλοφορητή ή λειτουργούν με λάδι μπορούν να επιτύχουν θερμοκρασίες από +5°C έως και +250°C, ενώ οι ψυχόμενες συσκευές μπορούν να κυμαίνονται από -20°C ή -40°C έως και +100°C. Με λίγα λόγια, το υδατόλουτρο είναι το όργανο που διατηρεί τα σκεύη και τα υλικά σε σταθερή θερμοκρασία για συγκεκριμένο χρόνο.





Εικόνα 22. Υδατόλουτρο MEMMERT



Εικόνα 23. Ψηφιακό Υδατόλουτρο 600W

- Ένα θάλαμο σταθερών συνθηκών υγρασίας και θερμοκρασίας για την επίστρωση των χρωμοσωμάτων

- Μικροσκόπιο αντίθεσης φάσης

Είναι το κλασικό μικροσκόπιο (Χ1000), το οποίο χρησιμοποιείται για παρατήρηση και αξιολόγηση των σπερματοζωαρίων (μορφολογία, κινητικότητα, συγκέντρωση). Τα μικροσκόπια για την αντίθετη φάση επιτρέπουν την παρατήρηση δειγμάτων με ανεπαρκή ή καθόλου αντίθεση, τα οποία δεν μπορούν να παρατηρηθούν με ένα μικροσκόπιο αντίθεσης φωτεινού πεδίου. Επιτρέπει επίσης την παρατήρηση των ζωντανών οργανισμών χωρίς την χρησιμοποίηση κυτταρικής χρώσης. Τα μικροσκόπια με αντίθετη φάση έχουν συγκεκριμένους αντικειμενικούς φακούς και συμπυκνωτή.



Εικόνα 24. Μικροσκόπιο αντίθεσης φάσης BioBlue.lab

### **3. ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΧΡΩΜΩΣΩΜΑΤΩΝ**

- Ένα οπτικό μικροσκόπιο (lightmicroscope) ( πχ με σύστημα ανάλυσης Ikaros)

#### ***ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗΣ***

Τα μηχανήματα και ο εξοπλισμός για αυτό το εργαστήριο είναι δυνατόν να εγκατασταθεί στο χώρο όπου γίνεται η συγκομιδή και η απομόνωση των λευκοκυττάρων. Είναι η μέθοδος Fluorescent in situ hybridization(FISH) στα σπερματοζωάρια και ο εξοπλισμός που χρειάζεται είναι:

- Ένα θάλαμο με εξαερισμό και φίλτρα για τα χημικά (fumehood)
- Υδατόλουτρο
- Φυγόκεντρο
- Μία πλάκα υβριδισμού

Ο θάλαμος με εξαερισμό, η φυγόκεντρος αλλά και το υδατόλουτρο μπορούν να είναι τα ίδια με εκείνα του εργαστηρίου της κυτταρογενετικής.

#### ***ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΚΑΙ ARRAYS-CGH***

Σε αυτόν τον τομέα θα γίνονται αναλύσεις των εμβρυικών κύτταρων (1 έως 10 το πολύ). Λόγω του υψηλού κινδύνου και της μόλυνσης με το DNA του χειριστή/γενετιστή, θα πρέπει να είναι εξαιρετικά σχολαστικός. Δηλαδή υπάρχει περίπτωση να γίνει απομόνωση και πολλαπλασιασμός του DNA του χειριστή/γενετιστή αντί για του εμβρυϊκού DNA. Πιο αναλυτικά, λόγω του ότι τα νεκρά κύτταρα του δέρματος μας πέφτουν συνέχεια πάνω στις διάφορες επιφάνειες, είναι απαραίτητο να καλύψει ο γενετιστής το δέρμα του για να μην εμφανιστούν δικά του κύτταρα στον σωλήνα του εμβρυϊκού κυττάρου. Διότι εάν δεν το προσέξουμε αυτό, θα γίνει απομόνωση και πολλαπλασιασμός του DNA από τα δερματικά κύτταρα και όχι του εμβρυϊκού κυττάρου το οποίο είναι υπό εξέταση. Σύμφωνα με όλα αυτά, προκύπτει ότι η διαδικασία θα πρέπει να γίνεται σε ένα αποστειρωμένο χώρο, στον οποίο θα γίνεται ο κατακερματισμός του DNA με UV ακτινοβολία. Μετά το πέρας κάθε περιστατικού θα ξαναγίνεται αποστείρωση

από το DNA, έτσι ώστε ο χώρος να είναι απόλυτα καθαρός. Άρα, όλοι όσοι μπαίνουν στο δωμάτιο αυτό είναι απαραίτητο να καλύπτονται με ειδική στολή μιας χρήσεως για τη μείωση της επιμόλυνσης του χώρου με το DNA του.

Συνεπώς για τον εξοπλισμό του εργαστηρίου arrays CGH θα χρειαστεί:

**1. Ένα καθαρό δωμάτιο με λάμπες UV ακτινοβολίας** τοποθετημένες πάνω από τους πάγκους εργασίας και το οποίο θα πρέπει να είναι εξοπλισμένο με τα κάτωθι:

- Ένα fumehood με ενσωματωμένη λάμπα UV ακτινοβολίας για την πραγματοποίηση των μοριακών σταδίων του πρωτοκόλλου.

- Έναν κυκλοποιητή PCR για την πραγματοποίηση της λύσης των εμβρυϊκών κύτταρων και του πολλαπλασιασμού του εμβρυϊκού DNA. Οι θερμικοί κυκλοποιητές πραγματικού χρόνου επιτρέπουν τον άμεσο προσδιορισμό του προϊόντος της PCR (αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης) με \ τη χρήση φθορίζοντων συνθετικών ολιγονουκλεοτιδίων, τα οποία ανιχνεύονται από την ενσωματωμένη κάμερα των θερμικών κυκλοποιητών πραγματικού χρόνου. Χαρακτηρίζονται από υψηλό βαθμό ευαισθησίας, όσον αφορά στη δυνατότητα ανίχνευσης του υπό έλεγχο PCR προϊόντος και επιτρέπουν την εξέταση μεγάλου αριθμού δειγμάτων σε μικρό χρόνο.

**2. Ένα δωμάτιο για τη συνέχιση του πρωτοκόλλου μετά τον πολλαπλασιασμό του εμβρυϊκού DNA** και το οποίο θα πρέπει να είναι εξοπλισμένο με τα εξής:

- Ένα fumehood με ενσωματωμένη λάμπα UV ακτινοβολίας για το μοριακό κομμάτι

- Έναν κυκλοποιητή PCR για την πραγματοποίηση του πολλαπλασιασμού του εμβρυϊκού DNA.

- Ένα θάλαμο υβριδισμού για την υβριδοποίηση του εμβρυϊκού DNA με το φυσιολογικό DNA αναφοράς, καθώς η βάση της τεχνικής αυτής είναι η σύγκριση του προς εξέταση εμβρυϊκού DNA με ένα φυσιολογικό DNA αναφοράς το οποίο παρέχεται από τον προμηθευτή.

- Ένα scanner που θα χρησιμοποιείται για τη σάρωση και το διάβασμα του υβριδοποιημένου πια εμβρυϊκού DNA και την σύγκριση του με το DNA αναφοράς.

ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΟΣ ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΕΝΟΣ ΚΕΝΤΡΟΥ ΥΠΟΒΟΗΘΟΥΜΕΝΗΣ  
ΓΟΝΙΜΟΠΟΙΗΣΗΣ



Εικόνα 25. Fume Hood



Εικόνα 26. PCR Thermocycler B960

## **ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΜΟΡΙΑΚΗΣ**

Σε αυτό θα αναλύεται το DNA σε γονιδιακό επίπεδο. Με αυτή την διαδικασία θα αναλύεται και θα προσδιορίζονται οι μεταλλάξεις που προκαλούν μια συγκεκριμένη νόσο η οποία είναι κληρονομική. Άρα, μετά τον προσδιορισμό της μετάλλαξης που υπάρχει, ελέγχονται τα έμβρυα και να ξεχωρίσουν μόνο εκείνα που δεν είναι μεταλλαγμένα. Ο χώρος και ο εξοπλισμός είναι ίδιος με εκείνου που χρησιμοποιείται στην ανάλυση με τεχνική array CGH:

**1. Ένα καθαρό δωμάτιο με λάμπες UV ακτινοβολίας τοποθετημένες πάνω από τους πάγκους εργασίας, με τον εξής εξοπλισμό:**

- Για το μοριακό κομμάτι του πρωτοκόλλου, ένα fume hood το οποίο θα διαθέτει λάμπα UV ακτινοβολίας για την πραγματοποίηση των μοριακών σταδίων του πρωτοκόλλου
- Για τον πολλαπλασιασμό του εμβρυικού DNA και την λύση των εμβρυικών κύτταρων, χρειάζεται ένας κυκλοποιητής PCR.

**2. Ένα δωμάτιο για τη συνέχιση του πρωτοκόλλου μετά τον πολλαπλασιασμό του εμβρυϊκού DNA εξοπλισμένο ως κάτωθι:**

- Για το μοριακό κομμάτι του πρωτοκόλλου, ένα fumehood το οποίο θα διαθέτει λάμπα UV ακτινοβολίας για την πραγματοποίηση των μοριακών σταδίων του πρωτοκόλλου
- Για τον πολλαπλασιασμό του εμβρυικού DNA και την λύση των εμβρυικών κύτταρων, χρειάζεται ένας κυκλοφορητής PCR.
- Ένας sequencer που θα χρησιμοποιείται για την σάρωση και το διάβασμα της αλληλουχίας του DNA. **[ΠΡΟΕΔΡΙΚΟ ΔΙΑΤΑΓΜΑ 10/2016]**



ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΟΣ ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΕΝΟΣ ΚΕΝΤΡΟΥ ΥΠΟΒΟΗΘΟΥΜΕΝΗΣ  
ΓΟΝΙΜΟΠΟΙΗΣΗΣ



Εικόνα 27. DNasequencer



Εικόνα 28. DNasequencers

## **ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΜΟΝΑΔΑΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗΣ**

Το εργαστήριο μονάδας αναπαραγωγής είναι αναγκαίο επίσης να διαθέτει τα εξής:

- **ΣΥΣΚΕΥΗ ΑΝΑΡΡΟΦΗΣΗΣ**

Προορίζεται για την αναρρόφηση των εκκρίσεων (βλέννα, αίμα, καταρροή) σε ασθενείς με τραχειοστομία, μετεγχειρητικούς ή κατακεκλιμένους ασθενείς



Εικόνα 29. Συσκευή αναρρόφησης GSHE-90 – Ηλεκτρική τροχήλατη αναρρόφηση

- **ΜΗΧΑΝΗΜΑ ΝΑΡΚΩΣΗΣ ΜΕ ΑΝΑΠΝΕΥΣΤΗΡΑ**

Είναι τα όργανα που έχουν ως σκοπό την παροχή με ασφάλεια προεπιλεγμένου μείγματος ιατρικών αερίων- ατμών (πητικα), σε μεταβλητή και με ακριβή ροή και συγκέντρωση. [Δρ. Καπρίτσου]



Εικόνα 30. Μηχάνημα αναισθησίας LEONPLUS



● ΦΟΡΗΤΟ ΑΚΤΙΝΟΛΟΓΙΚΟ ΜΗΧΑΝΗΜΑ



Εικόνα 31. Φορητό ακτινολογικό RXP-60HF

● ΗΛΕΚΤΡΟΚΑΡΔΙΟΓΡΑΦΟΣ

Οι ηλεκτροκαρδιογράφοι είναι ειδικές συσκευές, οι οποίες λειτουργώντας ως βολτόμετρα καταγράφουν τη διαφορά δυναμικού των ερεθισμάτων της καρδιάς, τα οποία παράγονται μεν από αυτήν, φτάνουν όμως στην επιφάνεια του δέρματος, όπου και καταγράφονται μέσω του καρδιογράφου. Η συσκευή αποτελείται από μία κεντρική μονάδα και ηλεκτρόδια, τα οποία τοποθετούνται στα άκρα και το θώρακα του εξεταζόμενου. Η μονάδα του καρδιογράφου περιέχει ακίδα και χαρτί, πάνω στο οποίο καταγράφεται το ηλεκτρικό δυναμικό στον κάθετο άξονα σε συνάρτηση με το χρόνο που αποτυπώνεται στον οριζόντιο άξονα. Οι σύγχρονοι ηλεκτροκαρδιογράφοι καταγράφουν σε οθόνη και όχι σε χαρτί το αντίστοιχο γράφημα.



Εικόνα 32. Τρικάναλος ηλεκτροκαρδιογράφος ECG300G

● **ΥΠΕΡΗΧΟΓΡΑΦΟΣ**

Το υπερηχογράφημα είναι αβλαβές για τα όργανα, δεδομένου ότι οι υπέρηχοι είναι ηχητικά κύματα υψηλής συχνότητας. Η κεφαλή του υπερήχου (ηχοβολέας), εκπέμπει ήχους και συλλέγει την αντανάκλασή τους από το εσωτερικό του σώματος. Η αντανάκλαση μετατρέπεται ηλεκτρονικά σε εικόνα, που μπορεί να προβληθεί σε οθόνη, αλλά και να εκτυπωθεί. Η εικόνα απεικονίζει τα διάφορα όργανα σε τομές συνήθως επιμήκεις ή εγκάρσιες σε διάφορα επίπεδα ανάλογα με την τοποθέτηση (κίνηση) του ηχοβολέα από τον εξεταστή.



Εικόνα 33. Έγχρωμος υπερηχοτομογράφος τύπου Voluson 730 PRO της G.E. υψηλής ευκρίνειας.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

### ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ

#### *ΚΛΙΝΙΚΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΚΑΙ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ*

Τα εργαστήρια εμβρυολογίας & ανδρολογίας έχουν καθαρά κλινικό ρόλο διότι συμμετέχουν στη θεραπεία στειρών ζευγαριών, σε αντίθεση με την πλειοψηφία των ιατρικών εργαστηρίων. Αυτές οι τεχνικές επιβάλλουν τον σωστό χειρισμό ανθρώπινων γαμετών (σπερματοζωαρίων και ωαρίων) και ανθρώπινων εμβρύων έτσι ώστε να επιτευχθούν οι περιζήτητες εγκυμοσύνες. Αυτά είναι και τα βασικά καθήκοντα ενός εργαστηρίου τεχνικών υποβοηθούμενης αναπαραγωγής. Είναι πολύ σημαντικό και απαραίτητο να διασφαλιστεί η ποιότητα, η ασφάλεια και η αναπαραγωγιμότητα όλων των μεθόδων, διότι έχουν σημαντικό αντίκτυπο και υπάρχει μεγάλη πιθανότητα κινδύνου. Για να επιτευχθεί και να διατηρηθεί το απαραίτητο υψηλό επίπεδο στις διαδικασίες, τα αποτελέσματα στις εγκυμοσύνες και η ποιότητα στην φροντίδα των ασθενών, τα εργαστήρια υποβοηθούμενης αναπαραγωγής τηρούν αυστηρά τα συστήματα διαχείρισης ποιότητας. Τα συστήματα διαχείρισης ποιότητας ενός εργαστηρίου ανθρώπινης αναπαραγωγής αποτελούνται από οδηγίες, πρωτόκολλα και δείκτες ποιότητας τα οποία έχουν επίσημα αναπτυχθεί και εκδοθεί από διεθνής κοινότητες εμπειρογνομόνων της υποβοηθούμενης αναπαραγωγής και μπορούν να εφαρμοστούν με ασφάλεια από ειδικά εκπαιδευμένο προσωπικό. Τα συστήματα διαχείρισης ποιότητας είναι απαραίτητα όχι μόνο για την πιστοποίηση της φροντίδας που προσφέρει μια Μ.Ι.Υ.Α. στους ασθενείς, αλλά αποτελούν απαραίτητα εργαλεία στη διαχείριση των διεργασιών ενός εργαστηρίου, βοηθώντας ουσιαστικά το προσωπικό να εκτελεί μεθοδικά, με ασφάλεια και με μεγαλύτερη αυτοπεποίθηση τις διεργασίες ποιότητας αλλά και τις τεχνικές υποβοηθούμενης αναπαραγωγής. Λόγω της αυξημένης τυποποίησης και αποτελεσματικότητας όλων των διαδικασιών καθώς και της βελτιωμένης διαφάνειας και ιχνηλασιμότητας από όλες τις ενέργειες που εκτελούνται, η ποιότητα της υπηρεσίας που παρέχεται από το εργαστήριο βελτιώνεται ουσιαστικά μέσω των συστημάτων διαχείρισης της ποιότητας.

## **ΟΡΓΑΝΩΣΗ/ΝΟΜΙΚΟ ΠΛΑΙΣΙΟ/ ΔΙΕΘΝΗΣ ΚΑΤΕΥΘΥΝΤΗΡΙΕΣ ΟΔΗΓΙΕΣ**

Κάθε σύγχρονο εργαστήριο εξωσωματικής γονιμοποίησης πρέπει να οργανώνεται εφαρμόζοντας ένα αυστηρό σύστημα διαχείρισης ποιότητας για την καθιέρωση και τη διατήρηση αυτής, διαμέσου εσωτερικών προδιαγραφών που θέτονται από τον υπεύθυνο ποιότητας και οι οποίες βασίζονται σε διεθνής κατευθυντήριες οδηγίες, στα πρότυπα διασφάλισης της ποιότητας αλλά και στα εθνικά νομικά πλαίσια. Τα προγράμματα ελέγχου και διασφάλισης ποιότητας πρέπει να περιλαμβάνουν όλες τις δραστηριότητες και τεχνικές εντός του εργαστηρίου. Το εργαστήριο οργανώνεται από τον διευθυντή του εργαστηρίου που τις περισσότερες φορές είναι και ο υπεύθυνος ποιότητας. Το προσωπικό του εργαστηρίου με βάση τα προσόντα του, αναλαμβάνει συγκεκριμένες εργασίες στο χειρισμό των γαμετών και οι αρμοδιότητές του καθώς και η κίνηση του μέσα στο εργαστήριο πρέπει να είναι ξεκάθαρες. Τα εργαστήρια εξωσωματικής γονιμοποίησης οργανώνονται με βάση τις διεθνής κατευθυντήριες “Οδηγίες ορθής πρακτικής στα εργαστήρια IVF” της Ευρωπαϊκής Εταιρείας Ανθρώπινης Αναπαραγωγής και Εμβρυολογίας (ESHRE). Τα εργαστήρια εξωσωματικής στην Ελλάδα καλούνται να τηρούν και να αποδεικνύουν ότι ακολουθούν την ελληνική νομοθεσία περί χειρισμού των γαμετών αλλά και τις οδηγίες της Ελληνικής Αρχής Ιατρικώς Υποβοηθούμενης Αναπαραγωγής η οποία απαιτεί διαφάνεια σε όλες τις διεργασίες και έχει το δικαίωμα ελέγχων όπου αυτό κριθεί απαραίτητο (ιχνηλάτιση, τεχνικές, πρωτόκολλα, τεκμηρίωση και τήρηση αρχείων). Όλες οι προϋποθέσεις περιλαμβάνονται στα συστήματα διαχείρισης ποιότητας του εργαστηρίου και της Μ.Ι.Υ.Α. και ελέγχονται ετησίως από διαπιστευμένες εταιρείες πιστοποίησης.

## **ΑΣΦΑΛΕΙΑ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ/ΥΓΕΙΑ ΚΑΙ ΑΣΦΑΛΕΙΑ ΕΡΓΑΖΟΜΕΝΩΝ**

Όλες οι τεχνικές υποβοηθούμενης αναπαραγωγικές περιλαμβάνουν το χειρισμό βιολογικού υλικού και ενέχουν πιθανό κίνδυνο μετάδοσης ασθενειών στο προσωπικό ή στο βιολογικό υλικό άλλων ασθενών (διασταυρούμενη μόλυνση). Για να αποφευχθεί κάθε τέτοιο σενάριο θα πρέπει να καθιερωθούν διαδικασίες για την εξασφάλιση της ασφάλειας του προσωπικού και την πρόληψη της διασταυρούμενης μόλυνσης, λαμβάνοντας υπόψη τους ευρωπαϊκούς και εθνικούς κανονισμούς ασφαλείας.

Ως εκ τούτου και με βάση τις κατευθυντήριες οδηγίες της Ευρωπαϊκής Εταιρείας Ανθρώπινης Αναπαραγωγής και Εμβρυολογίας:

- Συνιστάται ο εμβολιασμός όλου του προσωπικού κατά της ηπατίτιδας Β ή άλλων ιογενών ασθενειών, για τις οποίες υπάρχει εμβόλιο.

- Οι ασθενείς πρέπει να ελέγχονται για μολυσματικές ασθένειες σύμφωνα με την εθνική και διεθνή νομοθεσία.

- Το προσωπικό πρέπει να ενημερώνεται όταν ένας ασθενής με θετικό ιικό φορτίο θα υποβληθεί σε θεραπεία και να γνωρίζει τους κινδύνους χειρισμού ενός μολυσμένου βιολογικού υλικού.

- Πρέπει να υπάρχουν διαθέσιμα SOPs για τη διαχείριση ενδεχόμενων περιστατικών όπου μπορεί να υπάρξει ενδεχόμενη μόλυνση, π.χ. τραυματισμοί με βελόνες.

Για να εξασφαλιστούν επαρκή μέτρα ασφαλείας, η θεραπεία ασθενών με θετικό ιικό φορτίο πρέπει να πραγματοποιείται μόνο σε εργαστήρια εξωσωματικής γονιμοποίησης με ειδικούς χώρους, εξοπλισμό και άδεια. Επιπλέον, τέτοιες θεραπείες ασθενών θα μπορούσαν να κατανεμηθούν σε συγκεκριμένες χρονικές περιόδους, υπό την προϋπόθεση ότι η επεξεργασία των βιολογικών υλικών τους ακολουθείται από ενδεδειγμένη απολύμανση των κατανεμημένων περιοχών και εξοπλισμού. Κάθε φορά που εισάγεται βιολογικό υλικό στο εργαστήριο εξωσωματικής γονιμοποίησης από άλλη κλινική, τα αποτελέσματα του για τις μολυσματικές ασθένειες πρέπει να λαμβάνονται εκ των προτέρων. Εάν οποιοδήποτε μεταφερόμενο υλικό είναι θετικό σε ιούς, θα χρειαστεί ένα αποκλειστικό για τον συγκεκριμένο ιό, δοχείο μεταφοράς και κατάψυξης, ακολουθώντας τους ευρωπαϊκούς και εθνικούς κανονισμούς.

Όλα τα σωματικά υγρά (αίμα, θυλακιώδες υγρό, σπέρμα κ.λπ.) πρέπει να αντιμετωπίζονται ως δυνητικά μολυσμένα. Τα προστατευτικά μέτρα για το προσωπικό του εργαστηρίου για την εξασφάλιση άσηπτων συνθηκών για τους γαμέτες και τα έμβρυα περιλαμβάνουν:

- Αυστηρή τήρηση των κανονισμών υγιεινής του προσωπικού και των άσηπτων τεχνικών.

- Χρήση προστατευτικών εργαστηριακών ενδυμάτων, κατά προτίμηση με χαμηλή εκπομπή σωματιδίων.

- Χρήση καλυμμάτων μαλλιών, μη τοξικών γαντιών και μάσκας χωρίς πούδρα, όπου απαιτείται.

- Χρήση κατάλληλων σταθμών εργασίας με κατακόρυφη νηματική ροή αέρα για το χειρισμό βιολογικού υλικού.

- Χρήση μηχανικών συσκευών με πιπέτα.

- Άμεση απόρριψη αναλώσιμων μίας χρήσης, σε κατάλληλους κάδους βιολογικών αποβλήτων. Τα δυνητικά μολυσματικά υλικά πρέπει να απορρίπτονται κατά τρόπο που να προστατεύει τους εργαζομένους του εργαστηρίου και το λοιπό προσωπικό από την έκθεση. Τα θετικά για τα ιούς απόβλητα διαχωρίζονται σε ξεχωριστό κάδο, επισημαίνονται και απορρίπτονται σύμφωνα με τις πολιτικές βιοασφάλειας.

- Οι βελόνες, τα γυάλινα σκεύη και άλλα αιχμηρά αντικείμενα πρέπει να χειρίζονται με εξαιρετική προσοχή και να απορρίπτονται σε δοχεία αιχμηρών αντικειμένων.

- Πρέπει να χρησιμοποιούνται απολυμαντικά με αποδεδειγμένη συμβατότητα μη τοξικότητας των εμβρύων και αποτελεσματικότητα για εργαστήριο εξωσωματικής γονιμοποίησης.
- Απαγορεύονται αυστηρά τα τρόφιμα, το μάσημα, τα ποτά και ο καπνός.
- Η χρήση καλλυντικών πρέπει να ελαχιστοποιείται και τα αρώματα πρέπει να αποφεύγονται.
- Το προσωπικό πρέπει να ντύνεται κατάλληλα για να μειώσει τις πιθανές πηγές μόλυνσης.

## **ΕΓΚΑΤΑΣΤΑΣΕΙΣ/ ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΑΕΡΑ**

### **ΕΓΚΑΤΑΣΤΑΣΕΙΣ**

Ένα εργαστήριο εξωσωματικής γονιμοποίησης πρέπει να έχει επαρκή πρωτόκολλα λειτουργίας για την ελαχιστοποίηση τυχόν επιβλαβών επιπτώσεων στα αναπαραγωγικά κύτταρα και να διασφαλίσει την ορθή εργαστηριακή πρακτική. Το εργαστήριο πρέπει να είναι δίπλα στο χειρουργείο όπου εκτελούνται κλινικές διαδικασίες. Θέτοντας σε λειτουργία ένα εργαστήριο εξωσωματικής γονιμοποίησης, πρέπει να λαμβάνονται υπόψη οι πιο πρόσφατες εξελίξεις σε εγκαταστάσεις IVF εργαστηρίων, ο πιο σύγχρονος εξοπλισμός και επικαιροποιημένες διαδικασίες. Θα πρέπει να δοθεί μεγάλη προσοχή στην άνεση του χειριστή έτσι ώστε να παρέχεται ένα ασφαλές περιβάλλον εργασίας που ελαχιστοποιεί τον κίνδυνο απόσπασης της προσοχής, κόπωσης ή λάθους. Λαμβάνοντας υπόψη τις εθνικές, ευρωπαϊκές και διεθνείς απαιτήσεις υγείας και ασφάλειας στην εργασία, οι εκτιμήσεις θα πρέπει να περιλαμβάνουν από το ύψος του πάγκου και τις ρυθμιζόμενες καρέκλες, επαρκή χώρο εργασίας ανά άτομο, ύψος ματιού μικροσκοπίου, αποτελεσματική χρήση χώρου και επιφανειών έως τον επαρκή περιβαλλοντικό φωτισμό και κλιματισμό με ελεγχόμενη υγρασία και θερμοκρασία. Ο σχεδιασμός του εργαστηρίου πρέπει να βασίζεται στην τεχνολογία των καθαρών δωματίων χρησιμοποιώντας υλικά χαμηλών εκπομπών ρύπανσης σωματιδίων, με καθορισμένη σαφήνεια στην ποιότητα του αέρα. Η ροή εργασίας μέσα στον χώρο πρέπει να προγραμματιστεί για να εξασφαλιστεί η ελάχιστη απόσταση μεταξύ του επωαστήρα, του σταθμού εργασίας και του μικροσκοπίου. Αυτό θα ελαχιστοποιήσει επίσης τον κίνδυνο σύγκρουσης μεταξύ των μελών του εργαστηρίου. Πριν ξεκινήσει η λειτουργία ενός εργαστηρίου IVF, θα πρέπει να ελεγχθεί η αξιοπιστία του εργαστηριακού εξοπλισμού και των διαδικασιών και όλα τα προβλήματα που εντοπιστούν θα πρέπει να είναι διορθωμένα πριν ξεκινήσει η θεραπεία των ασθενών. Οι σταθμοί εργασίας πρέπει να παρέχουν φιλτραρισμένο αέρα και θερμαινόμενη επιφάνεια για τη διατήρηση της βέλτιστης θερμοκρασίας χωρίς καμία μόλυνση. Ένας εργονομικά

σχεδιασμένος εξοπλισμός είναι ικανός να ανακουφίσει την περιττή πίεση στον εμβρυολόγο.

Πιο συγκεκριμένα:

- I. Τα υλικά που χρησιμοποιούνται στις εργαστηριακές κατασκευές, οι βαφές, τα δάπεδα και τα έπιπλα πρέπει να είναι κατάλληλα για προδιαγραφές καθαρού δωματίου, ελαχιστοποιώντας την απελευθέρωση πτητικών οργανικών ενώσεων (VOCs) και την τοξικότητα στα έμβρυα.
- II. Ο εργαστηριακός σχεδιασμός πρέπει να διασφαλίζει τη βέλτιστη ροή εργασίας σε ελάχιστες αποστάσεις, ενώ χειρίζεται αναπαραγωγικά κύτταρα σε όλες τις φάσεις θεραπείας.
- III. Η πρόσβαση στο εργαστήριο πρέπει να περιορίζεται στο εξουσιοδοτημένο προσωπικό.
- IV. Συνιστάται αυστηρά ένα σύστημα για καθαρή πρόσβαση του προσωπικού και των υλικών στο εργαστήριο ( ρούχα, υποδήματα και καθαριότητα υλικών).
- V. Οι χώροι αλλαγής ρούχων πρέπει να είναι ξεχωριστοί από το εργαστήριο.
- VI. Οι εγκαταστάσεις για το πλύσιμο των χεριών πρέπει να τοποθετούνται έξω από το εργαστήριο.
- VII. Θα πρέπει να υπάρχει ξεχωριστός χώρος γραφείου για διοικητική εργασία εκτός του εργαστηρίου.
- VIII. Ένα ξεχωριστό εργαστήριο με απαγωγό ασφαλείας πρέπει να παρέχεται για αναλύσεις με τη χρήση τοξικών αντιδραστηρίων.
- IX. Ο χώρος καθαρισμού και αποστείρωσης υλικών πρέπει να είναι ξεχωριστός από το εργαστήριο.

## ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΑΕΡΑ

Για τη βελτιστοποίηση των περιβαλλοντικών συνθηκών, ο εργαστηριακός αέρας θα πρέπει να υπόκειται σε έλεγχο υψηλής απόδοσης σωματιδιακού αέρα (HEPA) και VOC. Οι διαδικασίες που περιλαμβάνουν χειρισμό γαμετών ή εμβρύων πρέπει να εκτελούνται σε ελεγχόμενο περιβάλλον. Το υπόβαθρο και η ποιότητα του αέρα επεξεργασίας πρέπει να συμμορφώνονται με τις ευρωπαϊκές και εθνικές οδηγίες και να παρακολουθούνται τακτικά. Στα εργαστήρια IVF, συνιστάται θετική πίεση για την ελαχιστοποίηση της μόλυνσης του αέρα. Σύμφωνα με την οδηγία για τους ιστούς και τα κύτταρα της Ευρωπαϊκής Ένωσης (EUTCD), η επεξεργασία ιστών και κυττάρων πρέπει να εκτελείται σε ένα περιβάλλον καλής πρακτικής παρασκευής (GMP) βαθμού A με φόντο τουλάχιστον GMP βαθμού D. Ωστόσο, εάν είναι επιζήμιο ή δεν είναι εφικτό να πραγματοποιηθεί μια συγκεκριμένη διαδικασία σε περιβάλλον Βαθμού A, μπορεί να εκτελεστεί σε τουλάχιστον περιβάλλον Βαθμού Δ.



## **ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ / ΣΥΝΤΗΡΗΣΕΙΣ/ ΔΙΑΚΡΙΒΩΣΕΙΣ/ ΕΞΩΤΕΡΙΚΟΣ ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ**

Όλα τα αναλώσιμα που έρχονται σε επαφή με γαμέτες και έμβρυα πρέπει να είναι επικυρωμένα ως προς τη μη τοξικότητά τους για έμβρυα και να υποστηρίζουν την φυσιολογική ανάπτυξη του εμβρύου. Κατ' επέκταση και όλος ο εξοπλισμός πρέπει να επικυρωθεί πριν από τη χρήση του σε επαφή με το γενετικό υλικό και να εγκριθεί η αξιοπιστία στη λειτουργία του καθώς και να αποδειχθεί ανεκτικός σε μη ιδανικές συνθήκες. Ο εξοπλισμός για ένα εργαστήριο εξωσωματικής επιλέγεται και αποκτάται με βάση τα χαρακτηριστικά της απόδοσης, όχι με βάση την τιμή του.

Οι τέσσερις βασικές περιβαλλοντικές μεταβλητές στη δημιουργία και ανάπτυξη ενός εμβρύου εργαστηριακά είναι :

1. η θερμοκρασία,
2. το pH,
3. η ωσμωτικότητα και
4. η μόλυνση τα οποία πρέπει να ελέγχονται και να παρακολουθούνται προσεκτικά ξεκινώντας από την βελόνα αναρρόφησης των ωαρίων έως το άκρο του καθετήρα της μεταφοράς του εμβρύου.

Είναι κρίσιμο οι μεταβλητές αυτές να μετρούνται στο σημείο όπου οι εμβρυολόγοι χειρίζονται τα έμβρυα. Για παράδειγμα, πρέπει να διασφαλιστεί ότι η θερμοκρασία του μέσου καλλιέργειας στο τρυβλίο είναι 37°C. Άρα η θερμοκρασία της θερμαινόμενης επιφάνειας πρέπει να οριστεί στην τιμή που απαιτείται για τη διατήρηση της θερμοκρασία του μέσου στο πιάτο στο επιθυμητό επίπεδο. Οι συντηρήσεις και διακριβώσεις του εργαστηριακού εξοπλισμού είναι απαραίτητες για την διασφάλιση της καλής λειτουργίας και την αξιοπιστία των αποτελεσμάτων. Είναι απαραίτητο ο εξοπλισμός να συνοδεύεται από τα κατάλληλα έντυπα επικύρωσης αλλά και καθημερινής παρακολούθησης της καλής λειτουργίας ( πχ καθημερινή μέτρηση της θερμοκρασίας).

Αναλόγως με το μέγεθος της κλινικής, με τον αριθμό των περιστατικών και τον αριθμό των χειριστών για κάθε μηχανήμα αποφασίζεται από τον υπεύθυνο του εργαστηρίου ο ρυθμός παρακολούθησης καθώς και διακρίβωσης ( μηνιαία, ετησίως, 6-μηνιο κοκ). Ο εξωτερικός ποιοτικός έλεγχος γίνεται με τη συμμετοχή του εργαστηρίου σε ένα αναγνωρισμένο εξωτερικό σύστημα διασφάλισης ποιότητας. Ο εξωτερικός ποιοτικός έλεγχος έχει πολλά οφέλη, συμπεριλαμβανομένων των πληροφοριών σχετικά με την απόδοση του εργαστηρίου στις διαφορετικές μεθόδους καθώς και στις γνώσεις σχετικά με την ικανότητά του να εκτελεί διεργασίες και να αναφέρει αποτελέσματα με ακρίβεια. Η συμβολή ενός εξωτερικού ποιοτικού ελέγχου στην απόκτηση της εμπιστοσύνης των ιατρών και των ασθενών και στην αγορά είναι επίσης επιθυμητή για μια Μ.Ι.Υ.Α.



## ΥΛΙΚΑ/ΠΡΟΜΗΘΕΥΤΕΣ

### ΑΝΑΛΩΣΙΜΑ

Οι προδιαγραφές των κρίσιμων αντιδραστηρίων και υλικών πρέπει να συμμορφώνονται με τους ευρωπαϊκούς και / ή εθνικούς κανονισμούς. Όλα τα αναλώσιμα και τα μέσα επεξεργασίας των γαμετών θα πρέπει να είναι κατάλληλα για τον σκοπό τους, να έχουν βαθμό ποιότητας καλλιέργειας εμβρύων και κατά προτίμηση με σήμανση CE. Συνιστάται η χρήση καλλιεργητικών μέσων, λαδιών και αναλώσιμων ελεγχόμενης ποιότητας μέσω διακριβωμένων πιστοποιήσεων. Εάν στο αναλώσιμο δεν παρέχεται ο κατάλληλος έλεγχος ποιοτικού ελέγχου για σκοπούς εξωσωματικής γονιμοποίησης, τότε αυτό πρέπει να πραγματοποιείται από το ίδιο το εργαστήριο ή από καθορισμένη εταιρεία διακρίβωσης. Επιπλέον, πρέπει να ελέγχεται η ακεραιότητα της συσκευασίας και οι κατάλληλες συνθήκες παράδοσης. Πρέπει να παρέχεται η τεκμηρίωση του ποιοτικού ελέγχου για οποιαδήποτε εμπορικό μέσο και θα πρέπει να αντιστοιχεί στην παραδοθείσα παρτίδα. Τα αναλώσιμα μίας χρήσης που χρησιμοποιούνται πρέπει να αγοράζονται αποστειρωμένα και όλα τα υλικά (αντιδραστήρια, μέσα και αναλώσιμα) πρέπει να χρησιμοποιούνται πάντα πριν από την ημερομηνία λήξης του κατασκευαστή. Το μέγεθος των συσκευασιών που αγοράζονται πρέπει να είναι κατάλληλο για την ελαχιστοποίηση των ανοιγμάτων και του χρόνου μεταξύ της πρώτης και της τελευταίας χρήσης. Πρέπει να υπάρχουν κατάλληλες εγκαταστάσεις ψύξης για αποθήκευση μέσων και αντιδραστηρίων. Πρέπει να επαληθεύεται η σωστή θερμοκρασία κατά την αποστολή τους στην κλινική και οι επαναλαμβανόμενες μεταβολές της θερμοκρασίας πρέπει να αποφεύγονται κατά το χειρισμό στο εργαστήριο. Πρέπει να είναι διαθέσιμο ένα κατάλληλο σύστημα διαχείρισης της αποθήκης για τα μέσα, το λάδι και τα αναλώσιμα, συμπεριλαμβανομένου του αριθμού παρτίδας, της ημερομηνίας εισόδου και της ημερομηνίας λήξης. Θα πρέπει να διενεργούνται εκτιμήσεις κινδύνου για να διασφαλιστεί ότι όλα τα αναλώσιμα και τα μέσα μπορούν να εντοπιστούν εύκολα για την αποφυγή κακής χρήσης.

### ΠΡΟΜΗΘΕΥΤΕΣ

Το ίδιο κρίσιμη και σημαντική είναι η επιλογή των κατάλληλων προμηθευτών για τα υλικά και αναλώσιμα. Οι προμηθευτές ενός εργαστηρίου IVF πρέπει να επιλεγθούν αρχικά με βάση το όνομα που έχουν κατακτήσει στην αγορά και με βάση τις πιστοποιήσεις τους. Οι προμηθευτές όπως και το εργαστήριο εμβρυολογίας πρέπει να διασφαλίζουν την ποιότητα της παροχής υπηρεσιών τους με κάποιο σύστημα διαχείρισης ποιότητας και αυτό να αποδεικνύεται με την πιστοποιητικό το οποίο ανανεώνουν κάθε χρόνο. Για τη διασφάλιση της αποθήκης και κατ' επέκταση των

αποθεμάτων σε υλικά συνιστάται η πλήρη συμφωνία μεταξύ της κλινικής ή του εργαστηρίου για τις μηνιαίες ή ετήσιες ανάγκες σε αναλώσιμα και μέσα επεξεργασίας γαμετών. Είναι απαραίτητη η εγγύηση πως ο προμηθευτής μπορεί να ανταποκρίνεται στις απαιτήσεις ενός τόσο κρίσιμου εργαστηρίου λαμβάνοντας υπόψιν παράλληλα την ευαισθησία των μέσων επεξεργασίας γενετικού υλικού (θερμοκρασίες, άσηπτες συνθήκες, ημερομηνίες λήξης κτλ.). Οι σχέσεις με τους προμηθευτές είναι επίσης κρίσιμο να είναι καλές εξασφαλίζοντας την καλή συνεργασία και ανταπόκριση. Οι προμηθευτές παρακολουθούνται στενά από το σύστημα διαχείρισης ποιότητας και αξιολογούνται ετησίως με βάση:

- α) τους χρόνους παράδοσης των παραγγελιών
- β) την συμφωνία της παραγγελίας με τις προδιαγραφές που έχει θέσει το εργαστήριο ή η Μ.Ι.Υ.Α.
- γ) την αξιοπιστία και το όνομα στην αγορά
- δ) την αξιολόγηση προηγούμενων συνεργασιών
- ε) την κρισιμότητα της παραγγελίας (άμεση παράδοση όπου κρίθηκε απαραίτητο)

Οι προμήθειες και η διατήρηση της ποιότητας τους σε ένα εργαστήριο και μια Μ.Ι.Υ.Α. είναι τόσο κρίσιμες που απαιτείται ένας υπεύθυνος παρακολούθησης του συστήματος, της ποιότητας και των αποθεμάτων. Απαιτείται επίσης η καταγραφή πιθανών κινδύνων και οι τρόποι αντιμετώπισής τους καθώς και εναλλακτικοί προμηθευτές για τα αναλώσιμα και μέσα που χρησιμοποιούνται.

## **ΔΙΕΡΓΑΣΙΕΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ/ΟΔΗΓΙΕΣ/ ΕΛΕΓΧΟΣ ΑΡΧΕΙΩΝ**

Μια διεργασία είναι οποιαδήποτε δραστηριότητα ή σύνολο δραστηριοτήτων που χρησιμοποιεί πόρους για τη μετατροπή πρώτων υλών, προμηθειών και εργασίας σε προϊόντα ή υπηρεσίες. Μια διαδικασία αντιπροσωπεύει μια ακολουθία βημάτων για την εκτέλεση μιας εργασίας. Και τα δύο αυτά στοιχεία είναι βασικά στοιχεία ενός συστήματος διαχείρισης ποιότητας. Οι διαδικασίες ενός εργαστηρίου εξωσωματικής γονιμοποίησης πρέπει να μεγιστοποιούν την πιθανότητα επιτυχίας και να ελαχιστοποιούν τον κίνδυνο. Είναι επομένως σημαντικό όχι μόνο να προσδιοριστούν όλες οι διεργασίες και τα βήματα που εμπλέκονται στην υλοποίηση των παρεχόμενων υπηρεσιών, αλλά και να τυποποιηθούν όλες οι διαδικασίες που είναι απαραίτητες για την παροχή των υπηρεσιών, γράφοντας τυποποιημένες διεργασίες λειτουργίας (SOPs) και εκπαιδύοντας την ομάδα για το πώς να τις ακολουθήσει. Οι τυπικές διεργασίες λειτουργίας αντιπροσωπεύουν την ακολουθία βημάτων που έχουν τυποποιηθεί για την εκτέλεση μιας εργασίας και χρησιμοποιούνται κάθε φορά που εκτελείται μια δεδομένη εργασία για να διασφαλιστεί ότι εκτελείται με τον ίδιο τρόπο κάθε φορά και από κάθε μέλος του

προσωπικού. Με άλλα λόγια, τα SOPs περιλαμβάνουν λεπτομερείς οδηγίες για την επίτευξη ομοιομορφίας στην εκτέλεση μιας συγκεκριμένης διαδικασίας.

Οι κύριοι λόγοι για τους οποίους τα κέντρα γονιμότητας χρειάζονται SOPs ως αναπόσπαστα στοιχεία του συστήματος ποιοτικού ελέγχου είναι:

- (i) η εξωσωματική γονιμοποίηση περιλαμβάνει επαναλαμβανόμενες, πολύπλοκες, εξαιρετικά σημαντικές εργασίες.
- (ii) πρέπει να ελέγχεται η διακύμανση
- (iii) περισσότερα από ένα άτομα εκτελούν συχνά την ίδια εργασία
- (iv) υπάρχουν κίνδυνοι για την ασφάλεια και
- (v) πρέπει να διασφαλιστεί ο ποιοτικός έλεγχος.

Τα SOPs είναι δυναμικά άρα πρέπει να αναθεωρούνται συνεχώς / να ενημερώνονται, με βάση νέες γνώσεις και παραλλαγές ή τα σφάλματα που εντοπίζονται μετά την εφαρμογή τους. Μια διεργασία που βασίζεται σε SOPs μπορεί να βοηθήσει στη μείωση της διακύμανσης / σφαλμάτων και συνεπώς να βελτιώσει την ασφάλεια και την αποτελεσματικότητα. Προκειμένου να επιτευχθεί αυτό, τα SOPs πρέπει να είναι έξυπνα σχεδιασμένα, πράγμα που σημαίνει ότι αποδεικνύεται ότι μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε μια συγκεκριμένη κατάσταση. Από κλινική άποψη, τα SOPs πρέπει να περιέχουν (εάν υπάρχουν) μετα-αναλυτικές πληροφορίες χρήσιμες για την κλινική ερμηνεία και τη λήψη αποφάσεων.

Συγκεκριμένα, οι τρεις βασικές ερωτήσεις που πρέπει να υποβάλει κανείς πριν από το σχεδιασμό / την ενημέρωση των κλινικών SOPs είναι:

- (i) απαντά το SOP βασικά κλινικά ερωτήματα όπως αν περιέχει απαντήσεις στις ερωτήσεις των χρηστών;
- (ii) βοηθάει η μετά-αναλυτική πληροφορία το SOP να προσδιορίσει τι να κάνει;
- (iii) παρέχει το SOP λύση για ενδεχόμενους κινδύνους;

Εκτός από τα SOPs, όλα τα υπάρχοντα έγγραφα και έντυπα που σχετίζονται με το κέντρο γονιμότητας θα πρέπει να επανεξετάζονται και να εγκρίνονται. Θα πρέπει να δημιουργηθεί ένα σύστημα για τη διαχείριση όλων των εγγράφων, συμπεριλαμβανομένης της συχνότητας επανεξέτασης και από ποιον, ποιος είναι υπεύθυνος για την παρακολούθηση και την εκχώρηση των αναθεωρήσεων, ποιος έχει ανατεθεί να εγκρίνει τις αναθεωρήσεις και πού βρίσκονται τα έγγραφα για εύκολη πρόσβαση. Είναι απαραίτητο να υπάρχει ένας μοναδικός ηλεκτρονικός διακομιστής για τη φύλαξη όλων των εγγράφων, στον οποίο θα έχει πρόσβαση όλο το προσωπικό και να υπάρχει κάποιος υπεύθυνος για τη χρήση της τελευταίας αναθεωρημένης έκδοσης. Για παράδειγμα, είναι σημαντικό για μια μαία να γνωρίζει ότι χρησιμοποιείται η κατάλληλη φόρμα συναίνεσης (ή οποιαδήποτε άλλη μορφή για αυτό το θέμα). Είναι επίσης ζωτικής σημασίας για τους εμβρυολόγους να ακολουθούν τα πρωτόκολλα και να γνωρίζουν ποιες φόρμες πρέπει να χρησιμοποιηθούν και να συμπληρωθούν. Είναι σημαντικό να έχουμε έναν εύκολο τρόπο αναγνώρισης, εύρεσης και παρακολούθησης αυτών των πρωτοκόλλων και

εγγράφων. Και πάλι, είναι ύψιστης σημασίας να διατηρούνται διαθέσιμες μόνο οι τελευταίες εκδόσεις. Οι τεκμηριωμένες διαδικασίες σε ένα εργαστήριο εξωσωματικής γονιμοποίησης επιτρέπουν τη συνεχή βελτίωση. Τα αρχεία ενός συστήματος ελέγχου ποιότητας είναι ο τρόπος και τα εργαλεία παρακολούθησης και πολλές φορές η απόδειξη ότι σύστημα και τα πρωτόκολλα τηρούνται από το προσωπικό. Αποτελούν τις δικλίδες ασφαλείας πως οι προβλεπόμενες ενέργειες δεν ξεχάστηκαν ή δεν προσπελάθηκαν από το προσωπικό. Τα σχετικά με την κάθε διαδικασία αρχεία αποτελούν μπορεί να αποτελούν επίσης και το σύστημα ιχνηλάτισης, μέρος του ιατρικού ιστορικού της κάθε της υπόθεσης.

## ΙΧΝΗΛΑΣΙΜΟΤΗΤΑ

Η ιχνηλασιμότητα είναι μια θεμελιώδης πτυχή της θεραπείας αλλά και μια θεμελιώδης απόδειξη πως η Μ.Ι.Υ.Α. κάνει ορθά τη δουλειά της τηρώντας του κανόνες του συστήματος διαχείρισης ποιότητας. Μπορεί τα λάθη στην αστοχία χρήσης του γενετικού υλικού να είναι σπάνια, παρόλα αυτά σε κάθε μονάδα πρέπει να υπάρχει σαφής διαδικασία αναγνώρισης ασθενούς και γαμετών που να περιλαμβάνει πρωτόκολλα μαρτυρίας. Για να ελαχιστοποιηθεί ο κίνδυνος σφάλματος κατά τον χειρισμό των ωαρίων, των σπερματοζωαρίων και των εμβρύων, είναι απαραίτητο ένα αποτελεσματικό και ακριβές σύστημα ιχνηλασιμότητας. Ένα ισχυρό πρωτόκολλο αναγνώρισης ασθενούς και γαμετών περιλαμβάνει επίσης αυτόπτη μαρτυρία από δεύτερο εμβρυολόγο η οποία απαιτείται σε όλες τις μονάδες εξωσωματικής γονιμοποίησης. Η παρακολούθηση ευπαθών βημάτων από δεύτερο χειριστή είναι το κύριο μέτρο ελέγχου που χρησιμοποιείται παγκοσμίως για τον μετριασμό του κινδύνου ανάμειξης. Ωστόσο, αναπόφευκτα αυτή η διαδικασία εκτίθεται δυνητικά σε ανθρώπινα λάθη. Δυστυχώς, στην πραγματικότητα έχουν αναφερθεί διάφορα λάθη με δραματικές συνέπειες τόσο για τους ασθενείς όσο και για τους επαγγελματίες του τομέα της υγείας. Λόγω του πιθανού κινδύνου ανάμειξης στην εξωσωματική γονιμοποίηση, έχουν δημιουργηθεί και ηλεκτρονικά συστήματα μαρτύρων τα οποία γενικά συνιστώνται. Ωστόσο, αυτά τα συστήματα είναι ακριβά και απαιτούν εκτενή επικύρωση. Η πλειονότητα των κέντρων εξωσωματικής, παγκοσμίως εξακολουθούν να χρησιμοποιούν μόνο ανθρώπινες προσεγγίσεις αυτοπτών μαρτύρων στις διαδικασίες ταυτοποίησης. Και με ποιους τρόπους επιβεβαιώνεται η ιχνηλασιμότητα ενός δείγματος γενετικού υλικού μέσα στο εργαστήριο; Αρχικά από το στάδιο της ωοληψίας και όπου ο ασθενής είναι ακόμα παρών στη διαδικασία γίνεται αναγνώριση ασθενούς από τον ίδιο τον εμβρυολόγο αλλά και με τη βοήθεια του υπεύθυνου προσωπικού π.χ. γιατρού ή μαιάς. Το όνομα του ασθενή ξεκινώντας από την υποδοχή γράφεται παντού από το βραχιολάκι ασθενούς, φάκελο που τον συνοδεύει παντού καθώς και πολλές Μ.Ι.Υ.Α. ή εργαστήρια χρησιμοποιούν προτυπωμένα ταμπελάκια με όνομα ασθενούς και αριθμό μητρώου. Μέσα στο εργαστήριο η ιχνηλασιμότητα των γαμετών γίνεται με ταμπελάκια με ονόματα του ασθενούς/ ζευγαριού και τον μοναδικό αριθμό μητρώου τους. Η επεξεργασία ενός δείγματος γίνεται από ένα εμβρυολόγο και έναν αυτόπτη μάρτυρα ο οποίος

επιβεβαιώνει την ταυτότητα του δείγματος. Όλα τα τρυβλία / σωληνάκια και τα πολλαπλά πηγαδάκια στα τριβεία για την προετοιμασία σπέρματος και ωαρίων, είναι προσημασμένα με τα ονόματα ή κωδικό ασθενούς. Διπλοί έλεγχοι φυσικά πριν από κάθε επόμενο στάδιο της επεξεργασίας. Και έντυπο παρακολούθησης δείγματος εντός του εργαστηρίου στο οποίο θα ιχνηλατείται όχι μόνο η ταυτότητα του εκάστοτε γενετικού υλικού αλλά και ο εξοπλισμός και τα μέσα που χρησιμοποιήθηκαν καθ' όλη τη διάρκεια της επεξεργασίας του. Κατά γενικό θεμελιώδη κανόνα, μόνο μία διαδικασία μπορεί να γίνει μια συγκεκριμένη στιγμή από έναν χειριστή και / ή στο ίδιο laminarflow.

## **ΕΠΙΛΥΣΗ ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΩΝ**

Δεδομένου ότι η πιθανότητα επίτευξης εγκυμοσύνης είναι απεριόριστα μεταβλητή μεταξύ όλων των ασθενών, η μεταβλητή δυναμική του τρόπου με τον οποίο οι κλινικοί ιατροί επιλέγουν να το επιτύχουν, οι φυσικές πτυχές της in vitro καλλιέργειας και η νομική υποδομή γύρω από τη διαδικασία, καθιστούν δύσκολο το γεγονός να επιτευχθεί ομοιομορφία στην παραγωγικότητα. Σε κάθε σημείο της διαδικασίας, η αποτυχία επίτευξης εγκυμοσύνης μπορεί να οφείλεται τόσο σε ενδημικές διεργασίες όπως εργαστηριακές όσο και σε κλινικές παρεμβάσεις ή σε θέματα των ασθενών όπως γενετικές ή περιβαλλοντικές εκθέσεις. Η προσέγγιση για την αντιμετώπιση τέτοιων προβλημάτων είναι να εντοπιστεί και να εκτιμηθεί η συνεχιζόμενη μεταβλητότητα χρησιμοποιώντας βασικούς δείκτες απόδοσης (KPI) όλων των πτυχών της λειτουργίας. Είναι εύκολο να κατηγορήσουμε το σύστημα για αποτυχία και περίπλοκο και δαπανηρό να προσπαθήσουμε να το διορθώσουμε. Η αποτυχία επίτευξης σταθερού ποσοστού εγκυμοσύνης αποτελεί διαρκώς το μεγαλύτερο κίνδυνο, και η διαχείριση των δεδομένων KPI είναι ο καλύτερος τρόπος για την πρόληψη της αποτυχίας και τον διαχωρισμό ενδημικών προβλημάτων από μεμονωμένα προβλήματα ασθενών. Καθώς όλα τα συστήματα διαχείρισης ποιότητας πλέον απαιτούν πλήρη λίστα με πιθανούς κινδύνους εντός και εκτός του εργαστηρίου, η λίστα αυτή συνοδεύεται και με την επίλυση του κινδύνου. Ο καλύτερος τρόπος αντιμετώπισης είναι η πρόληψη και αυτή επιτυγχάνεται με στενή παρακολούθηση της ποιότητας, συγκριτική αξιολόγηση των επιδόσεων, συνεχή εκπαίδευση και εμπειρία.

## **ΤΡΑΠΕΖΑ ΚΡΥΟΣΥΝΤΗΡΗΣΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΟΥ ΥΛΙΚΟΥ**

Οι εγκαταστάσεις κρυοσυντήρησης πρέπει να βρίσκονται ορθολογικά και με ασφάλεια έξω αλλά κοντά στο εργαστήριο και, για λόγους ασφαλείας, με ορατή πρόσβαση στο εσωτερικό του εργαστηρίου (π.χ. μέσω παραθύρου, κάμερας). Πρέπει να εγκατασταθούν επαρκείς συναγερμοί αερισμού και χαμηλού οξυγόνου. Συνιστώνται και οι προσωπικοί συναγερμοί χαμηλού οξυγόνου, ως πρόσθετο μέτρο ασφαλείας. Τα δοχεία κρυοσυντήρησης πρέπει να παρακολουθούνται συνεχώς και να είναι εφοδιασμένα με συστήματα συναγερμού, ανιχνεύοντας οποιαδήποτε θερμοκρασία εκτός του εύρους και / ή επίπεδα υγρού αζώτου (LN<sub>2</sub>).

Πρέπει να χρησιμοποιούνται συσκευές προστασίας (π.χ. γυαλιά, προστατευτική όψη προσώπου, κρυοπροστατευτικά γάντια, ποδιά, υποδήματα) κατά το χειρισμό του υγρού αζώτου (LN<sub>2</sub>) από το προσωπικό. Και όλο το προσωπικό που ασχολείται με το υγρό άζωτο (LN<sub>2</sub>) θα πρέπει να είναι εκπαιδευμένο σε θέματα ασφαλείας κατά τη χρήση του.

## **ΕΚΘΕΣΕΙΣ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ**

Η συστηματική παρακολούθηση των αποτελεσμάτων επιτρέπει την έγκαιρη ανίχνευση προβλημάτων και την άμεση έγκριση διορθωτικών ενεργειών. Η παρακολούθηση των αποτελεσμάτων σε σχέση με τους εργαστηριακούς βασικούς δείκτες απόδοσης είναι συνήθως αυτή που απαντά στην ερώτηση “Είναι όλα εντάξει μέσα στο εργαστήριο;” Άρα μια κλινική εξωσωματικής γονιμοποίησης χρειάζεται να καταγράφει τις αλλαγές στα κλινικά της αποτελέσματα σε ένα δεδομένο χρονικό διάστημα. Με αυτόν τον τρόπο, κάθε εργαστηριακή διαδικασία παρακολουθείται συνεχώς από τους δικούς της βασικούς δείκτες απόδοσης και εφόσον όλοι οι δείκτες απόδοσης του εργαστηρίου βρίσκονται σε ελεγχόμενα όρια κατά την εξεταζόμενη περίοδο, η απάντηση στο παραπάνω ερώτημα μάλλον θα παραμείνει θετική για το εργαστήριο. Ως εκ τούτου, τα αποτελέσματα ενός εργαστηρίου θα πρέπει να αξιολογούνται σε τακτική βάση και πάντα να προσδιορίζονται με βάση τις διάφορες μεταβλητές όπως η ηλικία της μητέρας ή οι παράγοντες του σπέρματος κτλ. μέσω κατάλληλων στατιστικών μεθόδων. Προκειμένου να αποφευχθεί η μεροληψία λόγω της διακύμανσης των ασθενών, με σκοπό τον ποιοτικό έλεγχο, θα πρέπει να επιλεγούν οι ομάδες όπου μπορούν να καθοριστούν συγκεκριμένα κριτήρια ( πχ ηλικιακές ομάδες, είδος θεραπείας, κοκ). Τα ακόλουθα πρέπει να αναλύονται τακτικά:

- ποσοστά γονιμοποίησης

- ποιότητα εμβρύου
- ποσοστά εγκυμοσύνης
- ποσοστά πολλαπλών κυήσεων
- ποσοστά εμφύτευσης.

Για πλήρη αξιολόγηση των αποτελεσμάτων, αυτή η ανάλυση θα πρέπει να πραγματοποιηθεί σε συνεργασία με το κλινικό προσωπικό. Ενώ οι δείκτες απόδοσης πρέπει να τεκμηριώνονται και να αποθηκεύονται, οι βασικοί δείκτες απόδοσης που θέτει η ESHRE πρέπει να παρακολουθούνται συνεχώς. Το κάθε εργαστήριο εφόσον θέσει την συχνότητα της παρακολούθησης (ετησίως, 3μηνο, 6μηνο) διασφαλίζει την ποιότητα των διεργασιών του παρακολουθώντας του βασικούς δείκτες ανάλυσης και ανά διαστήματα εκθέτει τα δικά του αποτελέσματα τα οποία καλείται να κοινοποιήσει και στο υπόλοιπο προσωπικό της κλινικής. Ιδανικά, τα αποτελέσματα θα πρέπει να παραμένουν πάντα εντός των ορίων ελέγχου των δεικτών. Εάν υπάρχουν αποκλίσεις το εργαστήριο θα πρέπει να προβεί σε περεταίρω αναλύσεις ( ή και γραφήματα) τα οποία πολλές φορές υποδεικνύουν και περισσότερα στοιχεία της ταλάντευσης μεταξύ των μαρτύρων σύμφωνα με το φυσιολογικό.

Οι ενδεχόμενες ταλαντεύσεις που μπορεί να προκύψουν υποδεικνύουν και τα διαφορετικά σενάρια:

- αν η ένδειξη τείνει προς το χαμηλό όριο ελέγχου, απαιτείται άμεση ενέργεια για τον προσδιορισμό του προβλήματος και αναζήτηση επίλυσής του - αν ο δείκτης διασχίζει το χαμηλό όριο προειδοποίησης, απαιτείται ενέργεια για τον προσδιορισμό εάν υπάρχει κάποιο πρόβλημα
- αν ο δείκτης πέφτει επί τρεις συνεχόμενες φορές κάτω από το όριο προειδοποίησης χωρίς να περνάει το όριο ελέγχου και απαιτείται μια ενέργεια για τον προσδιορισμό αν μπορεί να προκύψει πρόβλημα
- και αν ο δείκτης διασχίζει το υψηλό όριο ελέγχου, ο λόγος για τον οποίο συνέβη αυτό πρέπει να οριστεί. Εάν αυτή η βελτίωση είναι πραγματική και διατηρούμενη, το όριο ελέγχου πρέπει να επαναπροσδιοριστεί.

Με άλλα λόγια, τα κατώτατα όρια πρέπει να είναι δυναμικά, ρεαλιστικά και να βελτιώνονται με την πάροδο του χρόνου. Σημειωτέο, οι βασικοί δείκτες ανάλυσης μπορούν να προσδιοριστούν με βάση μια συγκεκριμένη ομάδα αναφοράς ασθενών με καλή πρόγνωση, πχ γυναίκες κάτω των 40 ετών που χρησιμοποιούν φρέσκα ωάρια και φρέσκο / κατεψυγμένο σπέρμα ή σε ολόκληρο τον πληθυσμό των ασθενών. **[ΕΛΕΥΘΕΡΙΑΔΟΥ, 2021]**



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6

### ΤΟ ΜΕΛΛΟΝ ΤΗΣ ΥΠΟΒΟΗΘΟΥΜΕΝΗΣ ΓΟΝΙΜΟΠΟΙΗΣΗΣ

Η τεχνητή νοημοσύνη αναμένεται να παίξει πολύ σημαντικό ρόλο στην τεχνολογία του μέλλοντος. Ορίζεται ως η ικανότητα ενός μηχανήματος να αναπαράγει τις γνωστικές λειτουργίες ενός ανθρώπου, να προσαρμόζει την συμπεριφορά του αφού έχει αναλύσει πρωτίστως τις συνέπειες προηγούμενων δράσεων και εν τέλει να λύσει προβλήματα τελείως αυτόνομα. Όσον αφορά τον ιατρικό κλάδο της γενετικής, συλλέγει πολλά δεδομένα, αναλύει εικόνες και μέσω του “έξυπνου λογισμικού”, η τεχνητή νοημοσύνη δίνει πολύ σημαντική βοήθεια στους εμβρυολόγους και γενετιστές. Υπάρχει το σύστημα τεχνητής νοημοσύνης ERICA, «Embryo Ranking Intelligent Classification Algorithm», που έχει ως βασικό σκοπό τη πρόοδο της λειτουργίας επιλογής εμβρύου για εμβρυομεταφορά. Το ERICA αποτελεί το νούμερο 1 σύστημα Τεχνητής Νοημοσύνης στον κόσμο, με ακρίβεια 92,5%. Έτσι δημιουργούνται νέες προοπτικές στον συγκεκριμένο τομέα μέσω των καινούριων τεχνολογιών. Έτσι, οι προοπτικές εγκυμοσύνης και γονιμοποίησης παιδιών αυξάνονται και μία καινούρια πόρτα στην εξωσωματική γονιμοποίηση ανοίγει. Μερικά από τα προτερήματα είναι τα εξής:

- Επιλέγεται το σωστό έμβρυο που πρόκειται να γονιμοποιηθεί
- Τα ενδεχόμενα αυξάνουν για επιτυχία εγκυμοσύνης από την 1η εμβρυομεταφορά
- Αμύνεται και βοηθάει μέχρι και τις πιο περίπλοκες περιπτώσεις υποβοηθούμενης αναπαραγωγής.
- Θέτει αντικειμενικά και συγκεκριμένα κριτήρια αξιολόγησης έτσι ώστε να περιορίζεται ο υποκειμενικός παράγοντας.
- Οι γονείς μπορούν να ενημερώνονται για την ανάπτυξη και την προοπτική των εμβρύων τους.

Η εφαρμογή της τεχνητής νοημοσύνης, προσφέρει πολλές δυνατότητες στις δυσκολίες που καλούνται να αντιμετωπίσουν οι υποψήφιοι γονείς. Αυτή την εποχή η έρευνα μελετάει τις δυνατότητες αναγνώρισης χρωμοσωμικών ανωμαλιών και άλλα γενετικά σύνδρομα στα έμβρυα, χωρίς να απαιτείται βιοψία ή άλλες γνωστές επεμβατικές πρακτικές. Το μόνο που χρειάζεται είναι η αξιοποίηση της τεχνητής νοημοσύνης και η αναλυτική ευφυΐα στην ανάπτυξη λογισμικών σε προοπτικές μελέτες. Η συγκεκριμένη εφαρμογή της τεχνητής νοημοσύνης αποτελεί την πλέον υποσχόμενη μέθοδο τεχνολογικής υποστήριξης στην κλινική Εμβρυολογία και την Αναπαραγωγική Ιατρική. [INSTITUTE OF LIFE ΙΑΣΩ, 2021]





Εικόνα 31. Εγκυμοσύνη με τεχνητή νοημοσύνη

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7

### ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Αλμαλόγλου Κωνσταντίνος (2017), “Υπογονιμότητα”  
<https://obstetric.gr/index.php/gynekeologia/subfertility/diereynisi-ypononimotitas>
- EMBRYOCLINIC “ΟΙ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΕΣ ΣΤΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΕΞΩΣΩΜΑΤΙΚΗΣ  
ΓΟΝΙΜΟΠΟΙΗΣΗΣ” (2019), <https://www.embryoclinic.eu/services/ivf-treatment/in-the-lab/?lang=el>
- Θάνος Παράσχος “Το εμβρυολογικό εργαστήριο” (2018)  
<https://www.youtube.com/watch?v=kW8lO7CKkJc>
- Dr Anirrudha Malpani (2022), “Embryos and eggs verification technique”,  
<https://www.drimalpani.com/knowledge-center/articles/vitrification-technique-vs-slow-freezing-embryos>
- F. Shenfield, G. Pennings, J. De Mouzon, A.P. Ferraretti (2008), “Good Clinical Treatment in Assisted Reproduction- An ESHERE position paper”, *Human Reproduction*, Volume 26, Issue 7 (2011)
- Daniel J. Kaser, Elizabeth S. Ginsburg, Douglas T. Carrell, Catherine Racowsky (2019), “REPRODUCTIVE TECHNOLOGIES”, Strauss, Jerome F., *Yen and Jaffe’s REPRODUCTIVE ENDOCRINOLOGY*, China, 979
- The ESHRE Capri Workshop Group “Genetic aspects of female reproduction”  
*Human Reproduction Update*, Volume 14, Issue 4, July-August 2008, 307
- Μεσσήνης, “ΜΑΙΕΥΤΙΚΗ ΚΑΙ ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΑ ΕΠΙΤΟΜΗ” (2005).
- Argyle et al., Hum Reprod Update 2016 ASRM. Mature oocyte cryopreservation: a guideline. *FertilSteril*, 2013
- Η έκκριση της LH κατά την πολλαπλή ωοθυλακική ωρίμανση, Ι.Ε. Μεσσήνης, *Ελληνική Μαιευτική και Γυναικολογία*. 18(4):266-271, 2006
- Lathi RB, Westphal MD, Milki AA, “Aneuploidy in the miscarriages of infertile women and the potential benefit of preimplantation genetic diagnosis”, *FertilSteril*, 2008
- Nagaoka SI, Hassold TJ, Hunt PA, “Human aneuploidy: mechanisms and new insights into an age-old problem”, 2012

Wilton Leeanda, "Pre-implantation genetic diagnosis for aneuploidy screening in early human embryos: a review", 2002

Παναγιώτης Καρατζής,

"Μικρογονιμοποίησης ICSI" <https://www.karantzisivf.gr/mikrogonimopoiisi-ICSI.html>

Γεώργιος Νικολόπουλος, "Κρυοσυντήρηση" (2015)

<https://georgenikolopoulos.gr/el/%CE%BA%CF%81%CF%85%CE%BF%CF%83%CF%85%CE%BD%CF%84%CE%B7%CF%81%CE%B7%CF%83%CE%B7>

"Τεχνικές καλλιέργειες κυττάρων", [https://student.cc.uoc.gr/uploadFiles/184-%CE%A7%CE%97%CE%9C-165/2.%20cell-culture\\_lect1.pdf](https://student.cc.uoc.gr/uploadFiles/184-%CE%A7%CE%97%CE%9C-165/2.%20cell-culture_lect1.pdf)

Instituteoflife- ΙΑΣΩ, "Η πιο εξελιγμένη μορφή τεχνολογίας που αλλάζει το μέλλον της εξωσωματικής, τώρα και στην Ελλάδα", (2021),

OnMed, <https://www.onmed.gr/ygeia-eidhseis/story/389708/h-pio-exeligmeni-morfi-texnologias-poy-allazei-to-mellon-tis-exosomatikis-tora-kai-stin-ellada>

Δρ.Καπρίτσου Μαρία, "Μηχάνημα και συστήματα αναισθησίας",

[https://eclass.uoa.gr/modules/document/file.php/NURS106/%CE%91%CE%9D%CE%91%CE%99%CE%A3%CE%98%CE%97%CE%A3%CE%99%CE%9F%CE%9B%CE%9F%CE%93%CE%99%CE%9A%CE%9F%20%CE%9C%CE%97%CE%A7%CE%91%CE%9D%CE%97%CE%9C%CE%91\\_%CE%9A%CE%91%CE%A0%CE%A1%CE%99%CE%A4%CE%A3%CE%9F%CE%A5%20%CE%9C%CE%91%CE%A1%CE%99%CE%91.pdf](https://eclass.uoa.gr/modules/document/file.php/NURS106/%CE%91%CE%9D%CE%91%CE%99%CE%A3%CE%98%CE%97%CE%A3%CE%99%CE%9F%CE%9B%CE%9F%CE%93%CE%99%CE%9A%CE%9F%20%CE%9C%CE%97%CE%A7%CE%91%CE%9D%CE%97%CE%9C%CE%91_%CE%9A%CE%91%CE%A0%CE%A1%CE%99%CE%A4%CE%A3%CE%9F%CE%A5%20%CE%9C%CE%91%CE%A1%CE%99%CE%91.pdf)

ΠΡΟΕΔΡΙΚΟ ΔΙΑΤΑΓΜΑ 517/91, Παράρτημα Γ' "Ιατρικός Εξοπλισμός Ιδιωτικών Κλινικών", [http://nomoskopio.gr/pd\\_517\\_91\\_pg.php?toc=0&printWindow&](http://nomoskopio.gr/pd_517_91_pg.php?toc=0&printWindow&)

Ελευθεριάδου Μαρία, "ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΣΕ ΜΟΝΑΔΕΣ ΙΑΤΡΙΚΩΣ ΥΠΟΒΗΘΟΥΜΕΝΗΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗΣ" (2021)

ΠΡΟΕΔΡΙΚΟ ΔΙΑΤΑΓΜΑ 10/2016-ΦΕΚ 20/Α/19-2-2016, "Άδεια ίδρυσης και λειτουργίας Μονάδων Ιατρικώς Υποβοηθούμενης Αναπαραγωγής (Μ.Ι.Υ.Α.). Όροι και προϋποθέσεις."

## **BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ ΕΙΚΟΝΩΝ ΚΑΙ LINKS**

**Εικόνα 1.** Αλμαλόγλου Κωνσταντίνος (2017), "Υπογονιμότητα",

<https://obstetric.gr/index.php/gyneekologia/subfertility/diereynisi-yrogonimotitas>

**Εικόνα 2.** Ιωάννης Δημητρακόπουλος (2016), "Υπογονιμότητα- Σύγχρονα ιατρικά

δεδομένα", *DoctoranytimeBlog*, <https://blog.doctoranytime.gr/yrogonimotita-syghrona-iatrika-dedomena/>

**Εικόνα 3.** ΓΕΝΕΣΙΣ ΚΡΗΤΗΣ, “Ενδομήτρια Σπερματέγχυση”,

<https://genesiscrete.gr/%CE%B5%CE%BD%CE%B4%CE%BF%CE%BC%CE%AE%CF%84%CF%81%CE%B9%CE%B1-%CF%83%CF%80%CE%B5%CF%81%CE%BC%CE%B1%CF%84%CE%AD%CE%B3%CF%87%CF%85%CF%83%CE%B7/>

**Εικόνα 4.** EMBRYOLABFERTILITYCLINIC(2012)“Ενδομήτρια Σπερματέγχυση”,

<https://embryolab.eu/spermategxisi/>

**Εικόνα 5.** Κατερίνα Μπουμπούλη (2021), “Εξωσωματική γονιμοποίηση: Μια δεύτερη ευκαιρία”, *FFLINEPOST*,

<https://www.offlinepost.gr/2021/05/03/exwsomatikh-gonimopoihsh-mia-deyterh-eykairia/>

**Εικόνα 6.** Αναστασάκης Ελευθέριος (2012), “Εξωσωματική Γονιμοποίηση (IVF)”,

<https://www.e-anastasakis.gr/eksosomatiki-gonimopoihsi-ivf/>

**Εικόνα 7.** Δρ. Παναγιώτης Καραντζής, “Μικρογονιμοποίηση”,

<https://www.karantzisivf.gr/blog.html>

**Εικόνα 8.** MEDITARRANEAN FERTILITY INSTITUTE,

“Υποβοηθούμενη εκκόλαψη με laser (LAH)”,

<https://www.ivfgreece.com/el/services/lah>

**Εικόνα 9.** ΓΕΩΡΓΙΟΣ ΑΡ ΝΙΚΟΛΟΠΟΥΛΟΣ (2015), “ΚΡΥΟΣΥΝΤΗΡΗΣΗ”,

<https://georgenikolopoulos.gr/el/%CE%BA%CF%81%CF%85%CE%BF%CF%83%CF%85%CE%BD%CF%84%CE%B7%CF%81%CE%B7%CF%83%CE%B7/>

**Εικόνα 10.** ASSISTING NATURE CRYOBANK, “Υαλοποίηση Ωαρίων”, *assisting nature Fertility Blog*,

<https://www.assistingnature.gr/%CE%B5%CE%BC%CE%B2%CF%81%CF%85%CE%BF%CE%BB%CE%BF%CE%B3%CE%B9%CE%BA%CF%8C-%CE%B5%CF%81%CE%B3%CE%B1%CF%83%CF%84%CE%AE%CF%81%CE%B9%CE%BF/%CF%85%CE%B1%CE%BB%CE%BF%CF%80%CE%BF%CE%AF%CE%B7%CF%83%CE%B7-%CF%89%CE%B1%CF%81%CE%AF%CF%89%CE%BD/>

**Εικόνα 11.** ΚΕΝΤΡΟ ΕΞΩΣΩΜΑΤΙΚΗΣ ΓΟΝΙΜΟΠΟΙΗΣΗΣ ΜΙΤΩΣΗ, “GIFT”,

<https://www.mitosis.gr/ypiresies-eksosomatikis-gonimopoiisis/gift/>

**Εικόνα 12.** InterGenetics, “Προεμφυτευτική γενετική διάγνωση (PGD) για κοινά γενετικά νοσήματα πχ μεσογειακή αναιμία, κυστική ίνωση”

<https://intergenetics.eu/exam/proemfyteytikh-genetikh-diagnwsh-pgd-gia-koina-genetika-noshmata-p-x-mesogeiakh-anaimia-kystikh-inwsh/>

**Εικόνα 13.** ΓΕΝΙΚΟ ΕΠΙΤΕΛΕΙΟ ΕΘΝΙΚΗΣ ΑΜΥΝΑΣ (2017)“Διακλαδική Μονάδα Ιατρικώς Υποβοηθούμενης Αναπαραγωγής στο ΝΝΑ”,

<https://geetha.mil.gr/ygeionomika/diakladiki-monada-iatrikos-ypovoithoymenis-anaparagogis-sto-nna/>



E%BC%CE%B1/ergastiriakos-  
exoplismos/%CE%B5%CF%81%CE%B3%CE%B1%CF%83%CF%84%CE%B7%CF%81%CE  
%B9%CE%B1%CE%BA%CE%AD%CF%82-  
%CF%83%CF%85%CF%83%CE%BA%CE%B5%CF%85%CE%AD%CF%82/%CF%85%CE%  
B4%CE%B1%CF%84%CF%8C%CE%BB%CE%BF%CF%85%CF%84%CF%81%CE%B1-  
%CE%BA%CE%BB%CE%AF%CE%B2%CE%B1%CE%BD%CE%BF%CE%B9-  
%CE%B5%CF%80%CF%8E%CE%B1%CF%83%CE%B7%CF%82-  
%CF%86%CE%BF%CF%8D%CF%81%CE%BD%CE%BF/%CF%85%CE%B4%CE%B1%CF%  
84%CF%8C%CE%BB%CE%BF%CF%85%CF%84%CF%81%CE%BF-  
%CF%88%CE%B7%CF%86%CE%B9%CE%B1%CE%BA%CF%8C-600w/

**Εικόνα 24.** MICROSCOPES.GR, “BioBlue.lab”, <https://www.microscopes.gr/bioblue-lab/>

**Εικόνα 25.** Wikipedia (2010), “Fume Hood”,  
[https://www.why.gr/%CE%BA%CE%B1%CF%84%CE%B1%CF%83%CF%84%CE%B7%CE%BC%CE%B1/ergastiriakos-  
exoplismos/%CE%B5%CF%81%CE%B3%CE%B1%CF%83%CF%84%CE%B7%CF%81%CE  
%B9%CE%B1%CE%BA%CE%AD%CF%82-  
%CF%83%CF%85%CF%83%CE%BA%CE%B5%CF%85%CE%AD%CF%82/%CF%85%CE%  
B4%CE%B1%CF%84%CF%8C%CE%BB%CE%BF%CF%85%CF%84%CF%81%CE%B1-  
%CE%BA%CE%BB%CE%AF%CE%B2%CE%B1%CE%BD%CE%BF%CE%B9-  
%CE%B5%CF%80%CF%8E%CE%B1%CF%83%CE%B7%CF%82-  
%CF%86%CE%BF%CF%8D%CF%81%CE%BD%CE%BF/%CF%85%CE%B4%CE%B1%CF%  
84%CF%8C%CE%BB%CE%BF%CF%85%CF%84%CF%81%CE%BF-  
%CF%88%CE%B7%CF%86%CE%B9%CE%B1%CE%BA%CF%8C-600w/](https://www.why.gr/%CE%BA%CE%B1%CF%84%CE%B1%CF%83%CF%84%CE%B7%CE%BC%CE%B1/ergastiriakos-exoplismos/%CE%B5%CF%81%CE%B3%CE%B1%CF%83%CF%84%CE%B7%CF%81%CE%B9%CE%B1%CE%BA%CE%AD%CF%82-%CF%83%CF%85%CF%83%CE%BA%CE%B5%CF%85%CE%AD%CF%82/%CF%85%CE%B4%CE%B1%CF%84%CF%8C%CE%BB%CE%BF%CF%85%CF%84%CF%81%CE%B1-%CE%BA%CE%BB%CE%AF%CE%B2%CE%B1%CE%BD%CE%BF%CE%B9-%CE%B5%CF%80%CF%8E%CE%B1%CF%83%CE%B7%CF%82-%CF%86%CE%BF%CF%8D%CF%81%CE%BD%CE%BF/%CF%85%CE%B4%CE%B1%CF%84%CF%8C%CE%BB%CE%BF%CF%85%CF%84%CF%81%CE%BF-%CF%88%CE%B7%CF%86%CE%B9%CE%B1%CE%BA%CF%8C-600w/)

**Εικόνα 26.** MAIN SOLUTIONS, “Thermocycler b960”,  
[https://www.mainsolutions.eu/Laboratory\\_Equipment/Thermal\\_cyclers\\_Thermocycl  
erB960\\_65\\_633.html](https://www.mainsolutions.eu/Laboratory_Equipment/Thermal_cyclers_ThermocyclerB960_65_633.html)

**Εικόνα 27.** Dreamstime, “DNA sequencer, 3D rendering”,  
[https://www.dreamstime.com/dna-sequencer-d-rendering-isolated-white-  
background-image179455226](https://www.dreamstime.com/dna-sequencer-d-rendering-isolated-white-background-image179455226)

**Εικόνα 28.** Wikipedia (2005), “A row of DNA sequencing machines on SteelSentry  
tables (3730xl DNA Analyzer machines from Applied Biosystems)”,  
[https://commons.wikimedia.org/wiki/File:DNA-  
Sequencers\\_from\\_Flickr\\_57080968.jpg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:DNA-Sequencers_from_Flickr_57080968.jpg)

**Εικόνα 29.** Γ. Σαμαράς A.B.E.E., “Ηλεκτρική τροχήλατη αναρρόφηση GSHEH-90”,  
[https://www.gsamaras.gr/el/product/21/suction-devices/155/high-vacuum-electric-  
suction-unit](https://www.gsamaras.gr/el/product/21/suction-devices/155/high-vacuum-electric-suction-unit)

**Εικόνα 30.** PAPAPOSTOLOU, “LEON PLUS”, [https://www.papapostolou.gr/product/leon-  
plus-2/](https://www.papapostolou.gr/product/leon-plus-2/)

**Εικόνα 31.** ΟΙΚΟΔΙΑΓΝΩΣΗ, “ΦΟΡΗΤΟ ΑΚΤΙΝΟΛΟΓΙΚΟ ΡΧΡ-60HF”,  
<https://www.oikodiagnosi.gr/el/25/26-26.html>

**Εικόνα 32.** FIREPROTECTION ΠΑΓΩΜΕΝΟΣ,” Τρικόναλος ηλεκτροκαρδιογράφος  
ECG300G  
”

**Εικόνα 33** .ΕΥΓΟΝΙΑ, “Τι είναι το υπερηχογράφημα”,  
<https://www.eugonia.com.gr/el/gonimotita/diagnosi-ypogonimotitas/diagnostikes-eksetaseis-gia-ti-gynaika/yperixografima/ti-einai-to-yperixografima>

**Εικόνα 34.** Αλέξανδρος Τζεφεράκος, “ Εγκυμοσύνη με... Τεχνητή Νοημοσύνη, η Νέα  
Εποχή στην Εξωσωματική Γονιμοποίηση”, *ΡΕΑ ΜΑΙΕΥΤΙΚΗ ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ*,  
<https://www.reamaternity.gr/egkymosyni-me-techniti-noimosyni-i-nea-epochi-stin-exosomatiki-gonimopoiisi/>