مقاله پژوهشی

کنترل کیفی وسایل مصرفی در آزمایشگاه ART به روش ارزیابی تحرک اسپرم انسانی (HuSMA)

ساره عاشورزاده*، اعظم آقارحیمی، محمدعلی خلیلی

- *مرکز تحقیقاتی و درمانی ناباروری، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران*

چکیده

زمینه و هدف: برای اطمینان از عدم سمیت مواد مصرفی که برای کشت جنینها و گامتها استفاده می‌شوند از سیستم کنترل کیفی استفاده می‌شود. برای حفظ بالاترین استاندارد در آزمایشگاه ART، تمام وسایل مصرفی در آزمایشگاه ART با کمک روش ارزیابی تحرک اسپرم انسانی (HuSMA) مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی: ۱۷ وسیله مورد استفاده در آزمایشگاه ART با روش HuSMA مورد بررسی قرار گرفتند. این وسایل شامل انواع سرنگ، دستکش، پتری دیش، سر سمپلر، پیپت، ظروف نمونه‌گیری بودند. در هر دو گروه کنترل و آزمایش بعد از ۱۰ دقیقه، ۳۰ دقیقه، ۱، ۲، ٤ و ٢٤ ساعت مورد بررسی قرار گرفتند و درصد اسپرم‌های در حال تحرک در هر گروه مشخص شد. سپس نسبت درصد اسپرم‌های متحرک گروه تست به گروه کنترل، به عنوان شاخص برای تشخیص سمیت در نظر گرفته شد. در صورتی که این نسبت از ۰/۸۵ کمتر بود، وسیله مورد نظر به عنوان وسیله توکسیک در نظر گرفته می‌شد. این آزمون برای هر نمونه سه بار تکرار گردید.

نتایج: کنترل کیفی با HuSMA نشان داد که ۳ نمونه مورد تست شامل دستکش انتقال جنین b و a و دستکش دریافت تخمک a دارای اثر سمی بودند. دستکش انتقال جنین a (SMI=۰/۰) و دستکش دریافت تخمک a (SMI=۰/۰) طی ۱۰ دقیقه پس از انکوبه شدن سمیت بالایی را نشان دادند؛ و دستکش انتقال جنین b (SMI=۰/٦٣) پس از ٢٤ ساعت سمی شناخته شدند (٤٦٪ اسپرم باتحرک پیشرونده در مقابل ٦٨٪ اسپرم پیشرونده در نمونه کنترل). همچنین ۲ نمونه دیگر، پتری‌دیش e (SMI=۰/٤٢) و ظرف جمع‌آوری مایع منی (SMI=۰/٦٧) در مرز قرار داشتند و پس از ٢٤ ساعت و با وجود٤ بار تکرار آزمون نتایج متفاوتی بدست آمد (۲ بار سمی و ۲ بار غیر سمی).

نتیجه‌گیری: مواردی از وسایل مورد استفاده در آزمایشگاه ART ممکن است اثر سمی بر گامت و جنین داشته باشد و لازم است وسایل مصرفی قبل از استفاده از نظر کیفیت مورد ارزیابی قرار گیرند. برای افزایش دقت HuSMA پیشنهاد می‌شود برای هر نمونه چندین بار آزمون تکرار گردد.

کلید واژگان: ارزیابی تحرک اسپرم انسانی، بخش جنین‌شناسی بالینی، روش‌های کمک باروری، سمیت سلولی، کنترل کیفی، لقاح خارج رحمی.

نحوه استناد به این مقاله: عاشورزاده ساره، آقارحیمی اعظم، خلیلی محمدعلی. کنترل کیفی وسایل مصرفی در آزمایشگاه ART به روش ارزیابی تحرک اسپرم انسانی (HuSMA). سال ۱۲ (۱۳۹۰)، شماره ۲، صفحات: ۱۰۸-۱۰۱.

*** مسئول مکاتبه:** ساره عاشورزاده، مرکز تحقیقاتی و درمانی ناباروری، خیابان بوعلی، صفائیه، کدپستی:۸۹۱٦۸۷۷۳۹۱، یزد

رایا نامه: sareashoorzadeh@yahoo.com

دریافت: ۸۹/۵/۲۳

پذیرش: ۸۹/۹/۲۷

Downloaded from http://www.jri.ir

زمینه و هدف

استاندارد نبودن وسایل و موادی که در درمان ناباروری از طریق روش‌های کمک باروری (ART)[1] استفاده می‌شود ممکن است بر رشد جنین‌های انسانی تأثیر سوء بگذارد. بنابراین، مواد مصرفی بخش ART، به خصوص مواردی که به صورت مستقیم و یا غیرمستقیم در ارتباط با گامتها و جنینها می‌باشند، باید فاقد هر نوع اثر منفی بر قدرت رشد و تکوین جنین و یا قدرت حیاتی گامت باشند (۱). در نتیجه،

1- Assisted Reproductive Techniques

تمام وسایل و مواد مصرفی مورد استفاده در بخش ART باید قبل از استفاده کلینیکی از نظر میزان سمیت مورد ارزیابی دقیق قرار گیرند (۲،۳).

به عبارت دیگر تعیین سمیت مواد مصرفی در بخش جنین‌شناسی IVF باید اولین گام در بررسی کنترل کیفی آزمایشگاه باشد. این مواد شامل انواع محیط‌های کشت، پیپت، سرسمپلر، سرنگ، دستکش، ظروف کشت و ظرف جمع‌آوری مایع منی می‌باشد. برای مثال، اکثر محیط‌های کشت جهت نگهداری گامتها و جنینها در ظروف پلاستیکی جمع‌آوری می‌شوند و تفاوت‌های زیادی میان کیفیت تولیدی کارخانه‌های مختلف وجود دارد (۳،٤). اگرچه گروهی عقیده دارند که اگر ظروف مورد نظر قبل از استفاده با محیط کشت شسته شوند، تا حدودی از اثر سمیت آنها کاسته شود، اما ضرورت دارد تمامی ظروف مصرفی که به نوعی با گامتها و جنین‌های آزمایشگاهی تماس می‌یابند، با دقت مورد ارزیابی قرار گیرند (٤).

یکی از بزرگترین مشکلات در تفسیر نتایج کنترل کیفیت، تعیین چگونگی اثرات سمی بر روی کیفیت جنین انسانی و میزان بارداری می‌باشد (٥). برای ارزیابی سمیت مواد مورد نظر، روش‌های متفاوتی پیشنهاد شده است. این روشها شامل کشت جنین تک سلولی (٦) و دو سلولی موش (۱،۷)، جنین‌های موش فاقد لایه زونا (ZP) (۸)، سلول‌های هیبریدی موش (۹)، سلول‌های تخمدانی هامستر و فیبروبلاست‌های انسانی (۱۰)، تحرک اسپرم هامستر و تحرک نمونه اسپرم انسانی (۲،۱۱) می‌باشد.

بهترین و متداول‌ترین روش ارزیابی بیولوژیکی[1] مواد مصرفی، روشی است که بیشترین حساسیت به مواد و شرایط توکسیک در محیط آزمایشگاه داشته باشد. روش‌های استفاده از جنین موش (MEA)[2]، اسپرم هامستر[3] و تحرک اسپرم انسانی (HuSMA)[4] بیشترین کاربرد را در کنترل کیفی بخش جنین‌شناسی دارند. روش استفاده از جنین موش اولین روشی است که برای کنترل کیفی پیشنهاد گردیده است. این روش بر پایه کشت جنین‌های یک و دو سلولی موش و کشت آنها تا مرحله بلاستوسیست می‌باشد. روش دوم که کمتر معمول است استفاده از اسپرم هامستر می‌باشد (۳).

سومین روش معمول استفاده از تکنیک بررسی تحرک اسپرم انسانی (HuSMA) است. این نوع ارزیابی روشی سریع و آسان برای تعیین سمیت مواد می‌باشد. روش ارزیابی حرکت اسپرم انسانی در اواخر دهه ۱۹۸۰ میلادی جهت ارزیابی و تست سمیت محیطها و مواد مصرفی ابداع گردید و هم اکنون نیز کاربرد وسیعی دارد (٤). برای مثال، Critchlow و همکاران در مطالعه‌ای که به ارزیابی سمیت با روش HuSMA پرداختند به این نکته دست یافتند که بعضی از انواع دستکش‌های مصرفی در آزمایشگاه ART، روی جنین انسانی اثر سوء داشته که قادرند این اثر را در زمان تماس با کاتتر انتقال نیز منتقل کنند (۱۲).

روش HuSMA بر پایه ارزیابی توانایی اسپرم و حفظ قدرت تحرک آن استوار می‌باشد و از فواید این روش در دسترس بودن نمونه اسپرم انسانی در آزمایشگاه‌های آندرولوژی است (۱۳). در بررسی کنترل کیفیت آزمایشگاه IVF، استفاده از اسپرم انسانی نسبت به اسپرم هامستر ارجحیت دارد، زیرا علاوه بر اینکه نیاز به آزمایشگاه و اتاق مخصوص حیوانات را مرتفع می‌سازد، از صرفه اقتصادی نیز برخوردار است. با روش HuSMA در مقایسه با MEA در کمترین زمان ممکن و با کمی مهارت و تجهیزات ابتدایی می‌توان کنترل کیفیت را مورد ارزیابی استاندارد قرار داد.

لذا با توجه به موارد فوق، هدف از این مطالعه بررسی میزان سمیت مواد و وسایل مصرفی در بخش ART بر پایه تست HuSMA می‌باشد. با توجه به بررسی‌های انجام شده به نظر می‌رسد که این اولین مطالعه در زمینهٔ کنترل کیفی وسایل مصرفی آزمایشگاه ART در ایران باشد.

روش بررسی

وسایل مصرفی مورد آزمایش: تست ارزیابی تحرک اسپرم انسانی "human sperm motility assay" بر روی ۱۷ مورد از وسایل و ظروف مصرفی آزمایشگاه ART انجام شد

1-Bioassay
2-Mouse Embryo Assay
3-Hamster sperm assay
4-Human Sperm Motility Assay

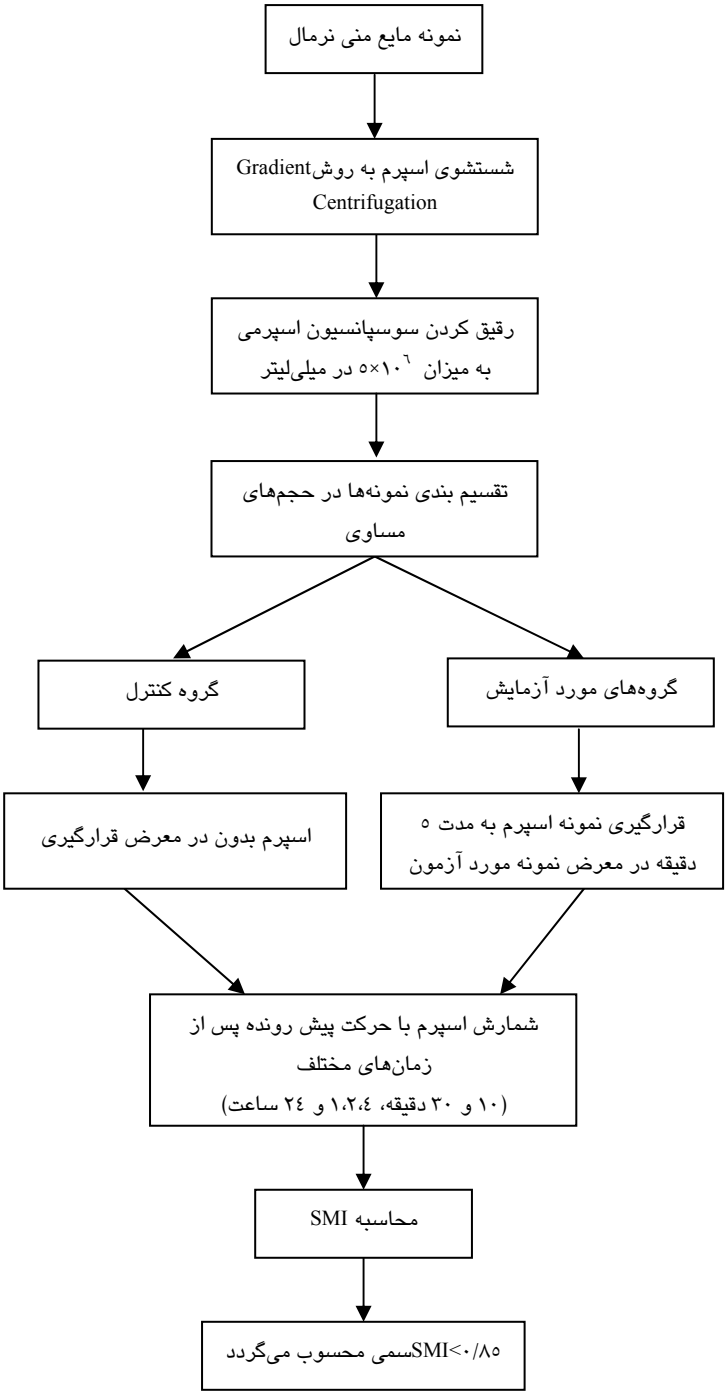
Downloaded from http://www.jri.ir

(شکل ۱). این وسایل شامل انواع سرنگها، فیلترها، ظروف کشت، سرسمپلر، ظروف جمع‌آوری مایع منی و انواع دستکش‌های ساخت شرکت‌های مختلف بود. لازم به ذکر است که جهت رعایت نمودن اخلاق پژوهش از ذکر شرکت‌های سازنده وسایل مورد مطالعه خودداری شده است. این مطالعه در آزمایشگاه تحقیقاتی ART مرکز تحقیقاتی و درمانی ناباروری یزد، در تابستان سال ۱۳۸۸ انجام شد.

تهیه اسپرم: نمونه‌های مایع منی به روش خودانزالی در یک ظرف استریل ۵۰*ml* (Falcon, USA) جمع‌آوری شد. پس از ۱۵ دقیقه وضعیت پارامترهای ماکروسکوپی نمونه شامل حجم، pH، رنگ، و ویسکوزیته مورد ارزیابی قرار گرفت. در صورت طبیعی بودن پارامترهای فوق، نمونه جهت ارزیابی پارامترهای میکروسکوپی مطابق معیارهای WHO مورد مطالعه قرار گرفت (۱٤). سپس، تعداد اسپرم‌های نمونه مورد نظر و میزان تحرک اسپرمها با استفاده از لام Makler بررسی شد. نمونه‌های دارای بیش از ۵۰٪ حرکت پیشرونده بودند، برای مطالعه انتخاب شدند.

نمونه مورد نظر پس از ۳۰ دقیقه برای انجام تست HuSMA آماده شد. روش آماده سازی اسپرم به روش gradient centrifugation با استفاده از ماده کلوئیدی Pure Sperm بود. در این روش از Pure sperm (Nidacon, Sweden) با غلظت ۹۰٪ و ٤۵٪ استفاده شد. یک میلی لیتر pure sperm ۹۰٪ در لوله ریخته شد و سپس به ترتیب pure sperm ٤۵٪ و یک میلی‌لیتر نمونه مایع منی اضافه گردید و لوله به مدت ۲۰ دقیقه با قدرت ۲۰۰*g* سانتریفیوژ شد. سپس رسوب حاصله با محیط Ham's F 10 فاقد آلبومین شسته گردید و مجدداً به روش شستشوی ساده[1] شسته شد. در این مرحله باید درصد تحرک پیشرونده اسپرمها به حداقل ۷۵٪ برسد. در مرحله بعد، رسوب اسپرمی به جا مانده در محیط رقیق شد، به طوری که غلظت نهایی اسپرم متحرک به ۵ میلیون رسید. اسپرم رقیق شده برای تمامی موارد در حجمهای ۰/۵*ml*، تقسیم شد. در هر سری

1- Simple wash



شکل ۱. مراحل انجام HuSMA در آزمایشگاه ART مرکز تحقیقاتی درمانی ناباروری یزد، ۱۳۸۸

آزمایش یک لوله به عنوان گروه کنترل و لوله‌های دیگر به عنوان گروه‌های آزمایش مورد بررسی قرار گرفتند. نمونه‌ها در هر دو گروه کنترل و آزمایش بعد از ۱۰ دقیقه، ۳۰ دقیقه و ۱، ۲، ٤ و ۲٤ ساعت بررسی شدند و درصد اسپرم‌های در

Downloaded from http://www.jri.ir

حال تحرک در هر گروه مشخص شد. تمام فرآیندهای شمارش اسپرم توسط یک نفر انجام گرفت. سپس نسبت درصد اسپرم‌های متحرک گروه تست به گروه کنترل، به عنوان شاخص برای تشخیص سمیت در نظر گرفته شد. در صورتی که این نسبت از ۰/۸۵ کمتر بود، وسیله مورد نظر به عنوان وسیله توکسیک در نظر گرفته می‌شد (۳) (شکل ۱). در هر سری نمونه‌گیری ۵ وسیله مورد آزمایش قرار گرفتند. در مورد هر وسیله آزمون ۳ بار با استفاده از سه نمونه مختلف تکرار شد.

شمارش اسپرم: برای شمارش اسپرم‌های با تحرک پیشرونده، مقدار ۱۰μl نمونه اسپرم بر روی لام makler chamber قرار گرفت و روی لام با لامل مخصوص پوشانده شد. سپس با میکروسکوپ نوری و بزرگنمایی ۲۰۰ تعداد ۱۰۰ اسپرم شمرده شد و درصد اسپرم‌های با تحرک پیشرونده محاسبه گردید.

جهت بالا بردن دقت، در هر مورد شمارش دو بار تکرار گردید. شایان ذکر است در کتاب WHO و گروهی دیگر از مطالعات انجام شده در این زمینه، علاوه بر پیشنهاد انجام آنالیز سمن با کمک نرم افزار کامپیوتری، انجام آنالیز سمن به روش دستی با کمک Makler Chamber نیز مدنظر قرار گرفته و تأکید شده است که در صورت تکرار شمارش (۲ بار) نتایج حاصل از روش دستی قابل اعتماد است. در عین حال گفته می‌شود در روش کامپیوتری علاوه بر گران بودن سیستم، احتمال بروز خطا نیز وجود دارد (۱۴،۱۵).

جدول۱. SMI حاصل از انواع دستکش‌های مورد استفاده در بخش ART مرکز تحقیقاتی درمانی ناباروری یزد، ۱۳۸۸

انواع دستکش	فاصله های زمانی					
	۱۰دقیقه	۳۰ دقیقه	۱ ساعت	۲ ساعت	۴ ساعت	۲۴ ساعت
دستکش پونکسیون a	۰	۰	۰	۰	۰	۰
دستکش پونکسیون b	۰/۹۱	۰/۹۷	۰/۹۵	۰/۸۹	۰/۸۶	۰/۸۷
دستکش انتقال جنین a	۰/۲۰	۰	۰	۰	۰	۰
دستکش انتقال جنین b	۰/۹۸	۰/۶۰	۰/۹۵	۰/۹۳	۰/۹۹	۰/۶۳
دستکش آزمایشگاهی	۰/۹۲	۰/۹۹	۰/۸۷	۰/۹۳	۰/۹۳	۰/۸۹

ارزیابی انواع لوله‌ها: برای ارزیابی انواع لوله‌ها، اسپرم‌های تقسیم شده تا حداکثر ۲۴ ساعت در آنها قرار گرفتند و در مراحل مختلف درصد اسپرم‌های متحرک ارزیابی شد.

ارزیابی سرنگها و پیپتها و ظروف نمونه‌گیری: برای ارزیابی این موارد، نمونه اسپرمی برای ۵ دقیقه در درون سرنگ و پیپت مورد نظر قرار گرفت و سپس به ظروف کنترل منتقل شد و مورد ارزیابی قرار گرفت.

ارزیابی انواع دستکشها: برای ارزیابی این موارد، تکه‌های ۰/۵×۰/۵ از دستکش مورد نظر بریده شد و به مدت ۵ دقیقه در ظروف حاوی اسپرم قرار گرفت. سپس قطعات دستکش از ظروف بیرون آورده شد و تحرک اسپرمها در زمان‌های تعیین شده مورد بررسی قرار گرفت.

ارزیابی انواع سرسمپلر: برای ارزیابی این موارد، سرسمپلر مورد نظر به مدت ۵ دقیقه در ظروف حاوی اسپرم قرار گرفت. سپس سرسمپلرها از ظروف بیرون آورده شد و تحرک اسپرمها در زمان‌های تعیین شده مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج

در این مطالعه با کمک روش HuSMA، تعداد ۵ نمونه از دستکش‌های مورد استفاده در آزمایشگاه ART ارزیابی شدند که از این میان دستکش دریافت تخمک a و دستکش انتقال جنین b طی ۱۰ دقیقه پس از انکوباسیون سمیت بالایی را نشان داده و تمام اسپرمها در طی این مدت غیر متحرک گردید (جدول ۱). همچنین ظروف کشت d، لوله آزمایش a و

جدول۲. SMI حاصل از ظروف کشت مورد استفاده در بخش ART مرکز تحقیقاتی درمانی ناباروری یزد، ۱۳۸۸

انواع ظروف کشت	فاصله های زمانی					
	۱۰ دقیقه	۳۰ دقیقه	۱ ساعت	۲ ساعت	۴ ساعت	۲۴ ساعت
ظروف کشت a	۰/۹۷	۰/۹۴	۰/۹۸	۰/۹۴	۰/۹۶	۰/۹۰
ظروف کشتb	۰/۹۹	۰/۹۵	۰/۹۸	۰/۹۷	۰/۹۲	۰/۹۲
ظروف کشت c	۰/۹۵	۰/۹۵	۰/۹۷	۰/۹۷	۰/۹۴	۰/۹۵
ظروف کشت d	۰/۹۴	۰/۹۶	۰/۸۷	۰/۹۴	۰/۹۲	۰/۶۷

Downloaded from http://www.jri.ir

جدول ۳. SMI حاصل از سایر ظروف و وسایل مصرفی در بخش ART مرکز تحقیقاتی درمانی ناباروری یزد، ۱۳۸۸

	وسایل مورد آزمایش	فاصله‌های زمانی					
		۱۰ دقیقه	۳۰ دقیقه	۱ ساعت	۲ ساعت	۴ ساعت	۲۴ ساعت
۱	سر سمپلر زرد	۰/۹۷	۰/۹۲	۰/۹۷	۰/۹٤	۰/۸۹	۰/۹۷
۲	سر سمپلر آبی	۰/۸۷	۰/۹۲	۰/۹۳	۰/۸۸	۰/۹۰	۰/۹۲
۳	سوزن پونکسیون	۰/۹۰	۰/۹۰	۰/۹٦	۰/۹۱	۰/۹٤	۰/۸۹
۴	سرنگ ۴ *ml*	۰/۹۲	۰/۹۲	۰/۹۷	۰/۹۲	۰/۹۱	۰/۸٤
۵	سرنگ ۱۰ *ml*	۰/۸۷	۰/۸۵	۰/۹۱	۰/۹۰	۰/۹۱	۰/۹۲
۶	لوله آزمایش a	۰/۸۷	۰/۹۱	۰/۹۲	۰/۹۲	۰/۹۱	۰/۷۷
۷	لوله آزمایش b	۰/۹۳	۰/۹۵	۰/۸۹	۰/۸۹	۰/۹۱	۰/۸۳

b، دستکش انتقال جنین a و سرنگ ٤ *ml* تا قبل از ۲٤ ساعت هیچ نوع تأثیر منفی بر تحرک اسپرمها مشاهده نشد اما در پایان ۲٤ ساعت اول برای آزمایش HuSMA سمی شناخته شدند (جداول ۱ و۲ و ۳).

در مورد لوله آزمایش b و سرنگ ٤*ml* وجود سمیت در پایان ۲٤ ساعت قطعی شد اگرچه SMI[1] این نمونه‌ها در حد مرزی قرار داشت به طوریکه لوله آزمایش b SMI=۰/۸۳ و در سرنگ ٤*ml*، SMI=۰/۸٤ بدست آمد (جدول ۳). شایان ذکر است که در مورد ظروف کشت e و ظرف جمع‌آوری مایع منی نتایج ضد و نقیض مشاهده گردید به طوریکه در ظروف کشت e در چهار بار تکرار تست SMI، ۲٤ ساعته تفاوت زیادی با هم داشت (جدول ٤).

جدول ۴. SMI حاصل از پتری دیش e در آزمایشگاه ART مرکز تحقیقاتی درمانی ناباروری یزد، ۱۳۸۸

	ظروف کشت e	فاصله های زمانی					
		۱۰ دقیقه	۳۰ دقیقه	۱ ساعت	۲ ساعت	۴ ساعت	۲۴ ساعت
۱		۰/۹۹	۰/۹۸	۰/۹۸	۰/۹۸	۰/۹۳	۰/۵۲
۲		۰/۹۸	۰/۹۷	۰/۹۷	۰/۹۷	۰/۹۹	۰/۳۲
۳		۰/۸۹	۰/۸۵	۰/۹۷	۰/۹۵	۰/۹۷	۰/۹۰
۴		۰/۹۹	۰/۹۹	۰/۹٦	۰/۹٦	۰/۹٤	۰/۹۷

1- Sperm Motility Index

همچنین در ظرف جمع‌آوری مایع منی مشاهدات حاکی از تفاوت SMI، ۲٤ ساعت در سه بار تکرار آزمون است (جدول ۵).

بحث

بعضی از مطالعات نشان داده‌اند که کشت موفق جنین انسانی در برنامه IVF نیاز به تجهیزات خوب آزمایشگاهی و انتخاب انواع غیرسمی مواد مصرفی و محیطهای کشت دارد. مراحل مختلف جنینی حساسیت‌های متفاوتی را به تأثیرات سمی نشان می‌دهد (۲۱-۸،۱٤،۱۲،۱٦-۲،۱،٦). مواد سمی می‌توانند در طول یک تماس خیلی کوتاه با هر وسیله‌ای منتقل شوند، به خصوص در مورد دستکشها و ظروف و وسایلی که در جمع‌آوری تخمک، آماده سازی اسپرم و انتقال جنین مورد استفاده قرار می‌گیرند (۵).به همین دلیل

جدول ۵. SMI حاصل از ظرف جمع‌آوری نمونه مایع منی در آزمایشگاه ART مرکز تحقیقاتی درمانی ناباروری یزد، ۱۳۸۸

	ظرف جمع آوری سمن	فاصله های زمانی					
		۱۰ دقیقه	۳۰ دقیقه	۱ ساعت	۲ ساعت	۴ ساعت	۲۴ ساعت
۱		۰/۹۰	۱	۱	۱	۰/۹۷	۰/۸۵
۲		۰/۹۷	۰/۹۷	۰/۹۵	۱	۱	۰/٦۱
۳		۰/۹۷	۱	۰/۹۷	۰/۹٦	۰/۹۸	۰/۷۰

Downloaded from http://www.jri.ir

کنترل کیفیت و مهارت در بخش ART، همیشه از اهمیت بالایی برخوردار بوده است. استفاده متداول از MEA در کنترل کیفیت وسایل مصرفی علاوه بر تحمیل زحمت بسیار، روشی گران بوده و نکات منفی دیگری نیز داراست؛ درحالیکه همانطور که در بسیاری از مطالعات نشان داده شده HuSMA هنگامیکه در شرایط کنترل شده انجام گیرد می‌تواند به طور مؤثر به عنوان قسمتی از برنامه استاندارد ارزیابی کیفیت و مهارت مورد استفاده قرار گیرد و مشکلاتی که در استفاده از سایر ارزیابی‌های بیولوژیکی وجود دارد در HuSMA کم رنگ بوده و یا وجود ندارد (۳)، به طوریکه توسط تعدادی از محققان تشخیص داده شد که اسپرم به ابزار و تجهیزات دارای سمیت سلولی بسیار حساس است (۸،۱۲،۲۲) و سطح بالایی از سمیت سریعاً توسط HuSMA می‌تواند تشخیص داده شود که داده‌های بدست آمده در این روش در بین آزمایشگاه‌های مختلف قابل مقایسه می‌باشد (۲).

استفاده از اسپرم انسانی به جای اسپرم هامستر برای کنترل کیفیت در IVF فواید زیادی از جمله نیاز نداشتن به آزمایشگاه حیوانی و تجهیزات جانبی دارد. HuSMA آزمونی کوتاه مدت است که در طول یک روز کاری قابل انجام است و به حداقل تجهیزات و مهارت (در مقایسه با MEA) نیاز دارد. اگرچه انجام همزمان این دو آزمون برای کنترل کیفیت تجهیزات و محیطهایی که برای اولین بار مورد استفاده قرار می‌گیرند موجب افزایش دقت، حساسیت و اطمینان گردیده و این دو آزمون می‌توانند مکمل یکدیگر می‌باشند (۲۳).

بدین منظور طبق توافق بسیاری از پژوهشگران نمونه مایع منی با پارامترهای طبیعی اسپرم می‌تواند برای تعیین سمیت مواد مورد استفاده قرار گیرد. کاهش سریع SMI نشان‌دهنده بالا بودن سمیت ماده مورد تست است. به علاوه کاهش سریع در SMI به ما اجازه می‌دهد که در مورد سمیت ماده مورد نظر ظرف ۳-۲ ساعت تصمیم‌گیری شود.

در این مطالعه نمونه مایع منی در ظروف دهانه گشاد یک بار مصرف با نام تجاری فالکون جمع‌آوری شد؛ زیرا ظروف جمع‌آوری سمن نیز جزء موارد آزمون بودند. به این ترتیب این اطمینان حاصل شد که در روند جمع‌آوری نمونه خطایی صورت نمی‌گیرد. از جمله وسایلی که در این مطالعه مورد آزمایش قرار گرفت، انواع دستکش‌های مورد استفاده در بخش ART بود. ارزیابی و کنترل کیفیت در انتخاب دستکشها مهم به‌نظر می‌رسد و در تعدادی از مطالعات دستکش‌های جراحی مورد استفاده در IVF سمی شناخته شده است.

در این تحقیق نیز با بررسی انجام شده بر ۵ نوع از دستکش‌های مورد استفاده، دستکش دریافت تخمک a و دستکش انتقال جنین b سمی شناخته شد. دو نوع دستکش دیگر هم مورد آزمون قرار گرفتند که سمیت آنها بعد از ۲٤ ساعت مشخص شد. این موضوع نشان‌دهنده سمیت کمتر این دستکشها در مقایسه با دستکش‌های انتقال جنین بود. این دستکشها در آزمایشگاه جهت نظافت استفاده می‌شدند که حاوی پودر نبودند. به نظر می‌رسد پودر موجود در دستکش اثرات سمی شدیدی دارد، بنابراین توصیه می‌شود، استفاده از دستکش‌های پودردار خودداری شود. Lierman و همکاران در مطالعه خود سمیت انواع دستکشها را در مطالعه خود مورد ارزیابی قرار دادند. در این مطاله تاکید شده است که شاید انواع دستکشها به دلیل برخورداری از کیفیت بالا، به کرات در بخش IVF استفاده می‌شوند، اما روشن است که باید از استفاده دستکش‌های جراحی برای IVF، بدون تست اختصاصی کنترل کیفی جلوگیری به عمل آید (۵).

وسایل دیگری که در این مطالعه مورد ارزیابی قرار گرفت انواع سرنگها و سر سمپلر و لوله‌های مورد استفاده در آزمایشگاه بود. از این وسایل معمولاً برای تهیه محیط کشت و قطره‌گذاری استفاده می‌شود. در این مطالعه فقط سرنگ a بعد از ۲٤ ساعت (SMI=۰/۸٤) سمی شناخته شد. همچنین دو نوع لوله آزمایش a و b پس از ۲٤ ساعت سمی شناخته شدند که SMI لوله آزمایش b نزدیک به مرز سمیت بود. البته جهت اطمینان از صحت و دقت نتایج در مورد ظروف و سایر وسایلی که SMI در آنها کمی پایین‌تر از ۰/۸۵ قرار گرفته است پیشنهاد می‌شود از تست MEA به عنوان آزمون تکمیلی استفاده گردد. قابل ذکر است که تمام سرنگ‌های استفاده شده در آزمایشگاه سرنگ‌های بدون پیستون بوند.

در این تحقیق یک سری از ظروف آزمایشگاهی دیگر مانند ظروف کشتی که در تماس گامتها و جنین قرار می‌گیرند نیز

Downloaded from http://www.jri.ir

مورد ارزیابی قرار گرفت که ازاین میان بین ظروف کشت d پس از ۲٤ساعت (SMI=۰/٦٧) بر اسپرم انسانی اثر سمی داشت.

در تمامی موارد SMI حاصل در سه بار تکرار آزمون نتایج مشابهی به دست آمد. اما در مورد ظرف جمع‌آوری مایع منی و ظرف کشت e ۳ بار تکرار آزمون نتایج ضد ونقیضی به دست آمد. البته سمیت آنها بعد از ۲٤ ساعت آشکار شد. به نظر می‌رسد حساسیت این تست با تفاوت نمونه کمی تغییر می‌کند. شاید بعضی از نمونه‌های مایع منی مقاومت بیشتری در برابر مواد سمی داشته باشند. بنابراین با توجه به این موضوع، تکرار مجدد تست و بررسی بیشتر در این گونه موارد الزامی است.

در عین حال نمونه‌های مورد تست از یک Lat No برداشته شد، بهتر است در هر سری جدید قبل از استفاده در ابتدا ظروف از نظر سمیت مورد ارزیابی قرار گیرد. چراکه ممکن است در Lat No دیگر سمیت مشاهده نگردد. در این مطالعه از تنها یک سری ساخت جهت ارزیابی سمیت استفاده گردید.

نتیجه گیری

به طور کلی نتایج این تحقیق نشان داد که کنترل کیفی مواد و وسایل مصرفی در آزمایشگاهART جهت شناسایی موارد با سمیت بالا حائز اهمیت می‌باشد که می‌توان این مهم را تا حد قابل قبولی با انجام HuSMA بررسی نمود. با توجه به حساسیت بالای اسپرم، تخمک و جنین، لازم است کنترل کیفی به طور روتین در آزمایشگاه ART انجام شود.

تشکر و قدردانی

از آقایان مهرداد سلیمانی و جلال قاسم زاده و تمامی همکارانی که در انجام این تحقیق ما را مساعدت نمودند صمیمانه سپاسگذاری می گردد.

References

1. Parinaud J, Reme JM, Monrozies X, Favrin S, Sarramon MF, Pontonnier G. Mouse system quality control is necessary before the use of new material for in vitro fertilization and embryo transfer. J In Vitro Fert Embryo Transf. 1987;4(1):56-8.
2. Castilla JA, de Assín RR, Gonzalvo MC, Clavero A, Ramírez JP, Vergara F, et al. External quality control for embryology laboratories. Reprod Biomed Online. 2010;20(1):68-74.
3. De Jonge CJ, Centola GM, Reed ML, Shabanowitz RB, Simon SD, Quinn P. Human sperm survival assay as a bioassay for the assisted reproductive technologies laboratory. J Androl. 2003;24(1):16-8.
4. Gardner DK. In vitro fertilization: a practical approach. 1st ed. New York: Informa Healthcare;2007. p. 365-7.
5. Lierman S, De Sutter P, Dhont M, Van der Elst J. Double-quality control reveals high-level toxicity in gloves used for operator protection in assisted reproductive technology. Fertil Steril. 2007;88(4 Suppl): 1266-72.
6. Quinn P, Warnes GM, Kerin JF, Kirby C. Culture factors in relation to the success of human in vitro fertilization and embryo transfer. Fertil Steril. 1984; 41(2):202-9.
7. Ackerman S, Swanson RJ, Stokes G, Veeck L. Culture of preimplantation mouse embryos as a quality control assay for human in vitro fertilization. Gamete Res. 1984;9:145-52.
8. Fleming TP, Pratt HP, Braude PR. The use of mouse preimplantation embryos for quality control of culture reagents in human in vitro fertilization programs: a cautionary note. Fertil Steril. 1987;47(5): 858-60.
9. Bertheussen K, Holst N, Forsdahl F, Høie KE. A new cell culture assay for quality control in IVF. Hum Reprod. 1989;4(5):531-5.
10. Ray BD, McDermott A, Wardle PG, Corrigan E, Mitchell JD, McLaughlin EA, et al. In vitro fertilization: fertilization failure due to toxic catheters. J In Vitro Fert Embryo Transf. 1987;4(1):58-61.
11. Edwards RG, Steptoe PC, Purdy JM. Establishing full-term human pregnancies using cleaving embryos grown in vitro. Br J Obstet Gynaecol. 1980; 87(9):737-56.
12. Critchlow JD, Matson PL, Newman MC, Horne G, Troup SA, Lieberman BA. Quality control in an in-vitro fertilization laboratory: use of human sperm survival studies. Hum Reprod. 1989;4(5):545-9.

Downloaded from http://www.jri.ir

13. Hafez ESE, Hafez SD. Atlas of clinical andrology. 1st ed. London: Taylor & Francis Group; 2005. p, 187-8.

14. Bavister BD, Andrews JC. A rapid sperm motility bioassay procedure for quality-control testing of water and culture media. J In Vitro Fert Embryo Transf. 1988;5(2):67-75.

15. Davidson A, Vermesh M, Lobo RA, Paulson RJ. Mouse embryo culture as quality control for human in vitro fertilization: the one-cell versus the two-cell model. Fertil Steril. 1988;49(3):516-21.

16. Esterhuizen AD, Bosman E, Botes AD, Groenewald OA, Giesteira MV, Labuschagne GP, et al. A comparative study on the diagnostic sensitivity of rodent sperm and embryos in the detection of endotoxin in Earle's balanced salt solution. J Assist Reprod Genet. 1994;11(1):38-42.

17. McDowell JS, Swanson RJ, Maloney M, Veeck L. Mouse embryo quality control for toxicity determination in the Norfolk in vitro fertilization program. J In Vitro Fert Embryo Transf. 1988;5(3): 144-8.

18. Morimoto Y, Hayashi E, Ohno T, Kawata A, Horikoshi Y, Kanzaki H. Quality control of human IVF/ICSI program using endotoxin measurement and sperm survival test. Hum Cell. 1997;10(4): 271-6.

19. Quinn P, Horstman FC. Is the mouse a good model for the human with respect to the development of the preimplantation embryo in vitro?. Hum Reprod. 1998;13 Suppl 4:173-83.

20. Van den Abbeel E, Vitrier S, Lebrun F, Bertrand E, Devrecker F, Englert Y. Optimized mouse bioassays for the detection of embryology contaminants. Hum Reprod. 1999;14(114):O-205.

21. Claassens OE, Wehr JB, Harrison KL. Optimizing sensitivity of the human sperm motility assay for embryo toxicity testing. Hum Reprod. 2000;15(7): 1586-91.

Downloaded from http://www.jri.ir