

## Condiciones optimas de trabajo en el laboratorio de FIV

Dra M<sup>a</sup> José de los Santos

Laboratorio de FIV. IVI. Valencia

La necesidad de que el trabajo en el laboratorio de desarrollo en unas buenas condiciones es obvia. La buena práctica se verá reflejada ineludiblemente en los resultados.

La complejidad creciente de algunas de las técnicas que se aplican en los laboratorios de embriología clínica y la mantenimiento de los embriones fuera del ambiente materno durante un tiempo más prolongado, hacen indispensables las mejoras del laboratorio para asegurar el éxito del FIV.

Existen una serie de puntos indispensables para garantizar estas condiciones óptimas de trabajo en el laboratorio.

1. Recursos humanos
2. Instalaciones del laboratorio
  - a. Dotación técnica del laboratorio
  - b. Condiciones Ambientales
3. Condiciones de cultivo
4. Control de calidad
  - a. Aplicación de los test de embriotoxicidad
  - b. Acreditación del laboratorio de FIV

### 1. RECURSOS HUMANOS

Cada uno de los procedimientos que se desarrollan en un laboratorio de FIV, desde la punción de ovocitos hasta la transferencia de embriones, pasando por la preparación de alícuotas de los medios, deben entrañar el mismo tipo de responsabilidad, todos ellos son igualmente importantes. Descuidos y falta de atención pueden desencadenar fallos de fecundación o bloqueo del desarrollo embrionario con la consiguiente pérdida de material humano y del ciclo de la paciente. Es fundamental por lo tanto, que el

grado de atención sea siempre el máximo incluso en aquellos procedimientos que no impliquen la manipulación directa de embriones y/o gametos. Este fin se consigue siguiendo una serie de requisitos como son, asegurar una plantilla suficiente para poder realizar todos los procedimientos sin precipitación, realización de único procedimiento a la vez y la concienciando del personal del laboratorio la importancia y trascendencia que el trabajo que realiza tiene.

La importancia del número de personas que componen la plantilla del laboratorio repercute en el tiempo que un embriólogo puede destinar a cada caso en concreto, así como en la agilidad mental y destreza a la hora de realizar un procedimiento en concreto. Los procedimientos que se realizan en un laboratorio son muy complejos, y muchas veces resultan largos y complicados exigiendo indudablemente concentración para evitar errores. Tasas de fecundación, calidad embrionaria y tasas de gestación, pueden verse significativamente afectadas por este tipo de variable.

El número de embriólogos y técnicos de laboratorio es por lo tanto, pieza clave del laboratorio. Este depende de la particularidades de cada laboratorio y debe estar en función del número y el tipo de procedimientos que se realizan al año, de la complejidad de las técnicas utilizadas y del reparto de actividades entre embriólogos y técnicos.

Una media bastante aceptable sería de 1 embriólogo por cada 100 procedimientos anuales, existen no obstante laboratorios con proporciones más desahogadas, 1 embriólogo cada 50 procedimientos o incluso más ajustadas, 1 embriólogo por cada 250 procedimientos.

## 2. INSTALACIONES DEL LABORATORIO

### a. Dotación técnica del laboratorio

Si el número de personas que componen la plantilla del laboratorio es importante, no lo es menos el equipamiento del laboratorio. De hecho es otro de los factores limitantes del éxito del FIV. Este, lógicamente, al igual que el personal, depende de las necesidades y rutina de trabajo de cada laboratorio y también esta función de la cantidad de procedimientos que se realizan.

Distinguiremos dos puntos importantes en este apartado: cantidad y equipamiento.

**Cantidad.-** La disponibilidad de campanas de flujo laminar, lupas, microscopios, equipos de micromanipulación, incubadores, etc...son piezas importantes para el funcionamiento del laboratorio de embriología y permitirán realizar los procedimientos dentro del tiempo requerido para ello.

El número de campanas de flujo laminar deber ser suficiente para no tener que realizar simultáneamente dos procedimientos en la misma campana. En lo referente al resto del equipo, es decir, lupas estereoscópicas, microscopios invertidos, equipos de micromanipulación y equipos de congelación, debe ser suficiente para que permita no tener que retrasar la realización de un procedimiento concreto más delo necesario.

El número de incubadores y su función es otro tema fundamental. Si es verdad que lo ideal parece ser tener un paciente por incubador, la razón de 3 pacientes por incubador es bastante razonable. La aparición del los incubadores denominados de trabajo o temporales son esenciales en el laboratorio ya que esto evitará la apertura innecesaria de los incubadores de cultivo.

**Equipamiento.-** La estabilización de las condiciones de cultivo al máximo lleva asociado el mantenimiento de las condiciones de cultivo de la forma más estable posible. Una de las variables que afecta a la viabilidad de ovocitos y embriones es claramente la temperatura (1, 2). Para evitar grandes fluctuaciones de temperatura, además de la adopción de ciertas técnicas de cultivo como la utilización de aceite mineral, el equipamiento de las campanas, lupas y microscopios con plataformas atemperadas resultan altamente beneficiosas.

### b. Condiciones Ambientales

El creciente interés por el efecto de contaminantes ambientales sobre la salud y el de los embriólogos por la mejora de las condiciones de cultivo de game-

tos y embriones ha creado una interesante amalgama de la que nace una preocupación por el impacto de las diferentes condiciones ambientales sobre el desarrollo preimplantacional de los embriones. Existen una amplia gama de productos que por sus condiciones específicas únicamente pueden realizarse bajo las condiciones ambientales de una cleanroom. Desde medicamentos especiales, hasta equipos ópticos de gran precisión, necesitan ser producidos o ensamblados bajo unas condiciones especiales que se consiguen en una cleanroom. Resulta, por lo tanto, bastante ilógico pensar que células tan valiosas como son gametos y embriones humanos, no se vean también beneficiadas de estas condiciones especiales durante su manipulación in vitro.

Durante su cultivo in vitro, gametos y embriones se ven expuestos a una serie de situaciones artificiales como son cambios de temperatura, presión de O<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub>, cambios en las condiciones de luz, temperatura, etc...que pueden afectar gametos y embriones (1-3), además de verse expuestos a sustancias con las que difícilmente llegarían a contactar de forma natural y que pueden afectar al desarrollo embrionario (4, 5).

Entre estas nuevas sustancias con las que circunstancialmente contactarán, podemos destacar: partículas de polvo, restos de vidrio, virutas de plástico, compuestos orgánicos volátiles, desinfectantes, etc.... Todas estas nuevas situaciones a las que embriones y gametos se verán expuestos pueden ser mitigadas en gran medida por la conversión de los laboratorios de FIV a cleanrooms. La conversión del laboratorio de FIV a cleanroom no sólo facilitará controlar la calidad del aire, es decir la concentración de partículas de un tamaño determinado, y la presencia de compuestos orgánicos volátiles, sino también conseguir unas condiciones estables de temperatura y humedad.

La calidad del aire dentro del laboratorio de FIV va a depender no sólo del filtrado exterior sino también del laboratorio en sí. El número de personas así como la indumentaria serán puntos importantes para controlar este parámetro. Sin la indumentaria adecuada, una persona puede generar alrededor de 2 millones de partículas menores de 0,5um/min, alrededor de 300.00 partículas mayores de 0,5 um/min y alrededor de 160 partículas con bacterias (6). Es por ello que el uso de mascarilla, gorro y calzado resultarán imprescindibles.

De las clases de cleanroom existentes, tal vez la clase ISO 5, sería una opción bastante razonable para el laboratorio de embriología. No obstante, la utilización de las cabinas de flujo laminar puede rebajar a ISO 6 ó ISO 7 el tipo de cleanroom al que el laboratorio de FIV puede convertirse.

La utilización de cabinas de flujo laminar equipadas con filtros HEPA, permiten el paso de sólo 3 de 10000 partículas de tamaño no superior a 0,3 µm. Estas resultan por lo tanto suficiente para evitar el paso de microorganismos, los cuales vienen normalmente unidos a otro tipo de material como restos de células de la piel, o agregados de polvo llegando a alcanzar tamaños de 10 a 15 µm.

La conversión de un laboratorio de FIV a una cleanroom requiere la adaptación del personal del laboratorio que irán en la línea del mantenimiento de la limpieza de la estancia, por ejemplo, sería conveniente el lavado frecuente de manos, la utilización correcta de la indumentaria, o la no utilización de ciertos materiales como gasas, ciertas clases de papel, etc.....

La adaptación del laboratorio de FIV al tipo de normativa ISO elegida y la presión positiva con respecto a estancia contiguas en el laboratorio debe ser suficiente para mantenimiento de la pureza del aire en lo que a partículas se refiere. Sin embargo, esta presurización no es suficiente para mantener el laboratorio libre de COV. Su control en el laboratorio se deberá realizar a varios niveles esto es, a nivel de los gases que llegan a los incubadores, a nivel el aire que llega desde el exterior, y por último a nivel del producido en el interior del laboratorio. Los dos últimos apartados pueden ser controladas de forma eficaz tras la utilización de los filtros basados en carbón activado y permangánato potásico instalados en los sistemas de aire que abastecen el laboratorio de FIV. El control de la posible contaminación debida a la impureza del CO<sub>2</sub> utilizado en incubadores puede ser controlada adaptando un sistema de filtros basado en el mismo principio que los anteriores, pero instalados en el sistema de abastecimiento de gases a la par que evitando gastar completamente las balas de CO<sub>2</sub> y utilizando un sistema de tuberías de canalización de gases con bajo potencial de liberación de residuos.

El control de calidad de las cleanroom, revisión de filtros, control de partículas, mediada de COV, será también importante para poder conservar las cualidades del aire.

Dada la dificultad adecuar los sistemas de filtrado para el control de las partículas, microorganismos y COV a laboratorios ya construidos, la utilización de medidas paliativas resultan bastante interesantes. Algunas de estas medidas podrían ser dejar siempre encendidas las campanas de flujo laminar para que actúen como unidades eliminadoras de partículas en el ambiente, cambiar los en los métodos de cultivo de gametos/embriones, instalar unidades CODA en puntos estratégicos, etc... La instalación de filtros CODA en algunos laboratorios han aumentado significativa-

mente de las tasas de gestación, y disminuido la de abortos en FIV (7). No obstante, podría ser interesante analizar la presencia algunos de los COV normalmente presentes en áreas urbanas que podrían presumiblemente estar afectando a los resultados de un laboratorio concreto y a partir de ahí diseñar estrategias a seguir.

Existen muchos estudios sobre los efectos nocivos de los diferentes contaminantes ambientales sobre la salud. La exposición breve a determinados tipos de estos compuestos son suficientes para ser detectados en sangre, y tras su exposición más prolongada, éstos pueden atravesar la placenta y detectarse en el líquido amniótico (8, 9). Además, se sabe que su exposición continuada puede aumentar del riesgo de sufrir infecciones pulmonares (10), cáncer de pulmón (11) así como tener consecuencias de índole reproductivo (8, 12, 13).

Debido a la ubicación urbana de los laboratorios de FIV y al trabajo rutinario que en él se desarrolla, (uso de rotuladores para marcar las placas, mecheros de alcohol para estirar pipetas, uso de productos de desinfección, presencia de microscopios, monitores de televisión, etc...), no es raro que tiendan a acumularse en el ambiente diferentes tipos de COV.

Las medidas realizadas en algunos laboratorios FIV demuestran que determinadas prácticas alrededor del laboratorio puede dar lugar a una elevación inesperada de ciertos compuestos y que algunos de ellos pueden encontrarse en mayor concentración en el interior de los incubadores llegando a ser entre 5 a 6 veces la concentración encontrada en el aire exterior del laboratorio (5). Es por ello que resulta interesante conocer si la presencia de estos compuestos en los laboratorios pueden afectar a los resultados de FIV. Los datos publicados provienen de estudios realizados en otras especies animales, y en muchos casos utilizan concentraciones muy superiores a las encontradas como término medio en los laboratorios, por lo que tienen un valor parcialmente informativo, sin embargo, unidos a los resultados indirectos obtenidos de centros de reproducción asistida en los que se ha seguido las gestaciones en relación con la calidad del aire, pueden ofrecer una orientación a seguir frente a la presencia de ciertos COV en los laboratorios de FIV (5, 14).

La presencia de benceno y sus derivados esto es, fenoles, catecoles o hidroquinonas, tiene efectos negativos en reproducción. Inhalación de vapores de tolueno a concentraciones entre 6 y 20 veces las permitidas por la Administración de Salud y Seguridad Ocupacional Americana (OHS) son capaces de disminuir significativamente el recuento de espermato-

zoides y ser embriotóxico en roedores (13). La presencia de benceno en el medio de cultivo produce aneuploidías, alteraciones en la síntesis de ADN y mutaciones génicas en embriones de hámster (15) lo cual puede repercutir seriamente en la capacidad de división e implantación.

Otras sustancias como el metanol que también puede ser encontrado en concentraciones mayores dentro de los incubadores también tiene efectos nocivos sobre los embriones de rata; a concentraciones próximas a 300  $\mu\text{M}$ , aunque no a 200  $\mu\text{M}$ , el metanol tiene efectos embriotóxicos (16).

La presencia de aldehídos en las proximidades de los laboratorios de FIV es otra de las circunstancias que se ha visto estar relacionada con la disminución de las tasas de gestación, entre ellos la acroleína es uno a tener en cuenta.

La acroleína es un aldehído que es letal para el hombre en concentraciones de 10 ppm. Las concentraciones actuales de dicho compuesto en las ciudades muy contaminadas es de alrededor de 9 ppb. Algunos estudios realizados en ratón sobre el efecto de la acroleína en el medio de cultivo demuestran que la presencia de dicho compuesto, en concentraciones del orden de 1.4 ppm, inhibe parcialmente el desarrollo hasta blastocisto mientras que concentraciones del orden de 5.6 ppm lo inhibe por completo (5).

Otro de los posibles compuestos estudiado el estireno catalogado como posible carcinógeno por la Agencia de Protección Ambiental, está presente en concentraciones detectables en los laboratorios de FIV debido posiblemente a su liberación por el material de plástico de poliestireno en donde puede quedar restos del monómero. Aunque medio de cultivo saturado con estireno es perjudicial para el desarrollo de los embriones de ratón hasta blastocisto (4). Su efecto nocivo en concentraciones encontradas normalmente puede ser cuestionable, no existen evidencias claras de su efecto mutagénico, alterador endocrino, o cancerígeno y además tiene una vida media muy corta de 3-4 horas, descomponiéndose tras 12 horas en  $\text{CO}_2$  y  $\text{H}_2\text{O}$  bajo condiciones aeróbicas.

## 2. CONTROL DE CALIDAD

### *a. Aplicación de los controles de calidad*

Los controles de calidad y la elección del tipo de test a utilizar sobre los medios de cultivos y material utilizados en el manejo de los gametos y embriones (jeringas, puntas de pipetas, placas de cultivo, etc...) es otro tema muy importante para el mantenimiento de las condiciones óptima de trabajo. Aunque la nece-

sidad de su realización podría ser cuestionada en algunos productos, ya que éstos están testados en sus lugares de manufacturación, las condiciones de transporte y almacenamiento podría afectar a la viabilidad de los embriones por lo que resulta aconsejable volver a repetir los tests para mayor seguridad.

Hay descritos muchos tipos de test para comprobar la embriotoxicidad de los productos utilizados en los laboratorios de FIV. Entre ellos están los test que estudian la probabilidad de embriones de ratón de 1 ó 2 células para llegar hasta blastocisto (17-19), o los que se basan en el índice de motilidad espermática de espermatozoides de animales de laboratorio (20, 21), o espermatozoides humanos (22, 23). Entre estos test hay además diferentes grados de astringencia o sensibilidad.

El tipo de test más apropiado para comprobar la viabilidad de los medios y resto de material del laboratorio es un tema un tanto escabroso ya que existen datos en la literatura que bien no encuentran asociación del resultado de los tests con las tasas de gestación (24-26) o que encuentran mejor asociación con los parámetros del FIV con unos test que con otros (18, 20, 21).

Puesto que los resultados pueden ser muy variables dependiendo del tipo de test realizado, del tipo de producto sobre el que se realiza el test, etc, ... cada laboratorio debe utilizar aquel que mejor se correlacione con sus tasa de desarrollo embrionario y gestación.

Otro control de calidad que debe llevarse a cabo en el laboratorio es el chequeo diario de temperaturas de los diferentes instrumentos como frigoríficos, placas calefactoras, incubadores, niveles de  $\text{CO}_2$  de los incubadores, pH de los medios, etc, lo que contribuirá al mantenimiento de la estandarización del trabajo diario y a la obtención de buenos resultados.

### *b. Acreditación del laboratorio de FIV.*

Dados los riesgos que conlleva el trabajo en un laboratorio de RA. La aplicación de los controles de calidad se hacen indispensables. Estos son importantes para asegurar la reproducibilidad y la estandarización de los procedimientos que se realizan en el laboratorio y es fundamental que el personal del laboratorio conozca como se deben realizar. La estandarización de las condiciones de trabajo en el laboratorio no sólo facilita la agilidad y calidad del trabajo sino que permite el control rápido sobre el efecto negativo de nuevas variables que se hayan introducido en el laboratorio así como la reproducibilidad de los resultados en diferentes laboratorios.

Muchos países tienen legislación sobre la forma de trabajo en los laboratorios de RA. En Estados Unidos, Gran Bretaña, o Suecia existen unos organismos que son los responsables de autorizar y ofrecer recomendaciones para la práctica de procedimientos de RA tras la colaboración con diferentes asociaciones científicas como la ASRM, ESHRE, ALPHA, etc..(27-30). En Europa existe una organización llamada Cooperación Europea para la Acreditación ([www.european-accreditation.org](http://www.european-accreditation.org)) cuya misión es acreditar laboratorios de RA que pertenecen a los miembros de la Comunidad Europea. Para poder pasar con éxito sus auditorías es imprescindible que el laboratorio cumpla con un serie de requisitos relacionados con el trabajo de tipo administrativo, aspectos concernientes al laboratorio y aspectos clínicos. Los cuales deberán ir en línea de las normas ISO o EN.

El laboratorio de FIV deberá tener actualizados la calibración de todos los instrumentos/ equipos. Deberá también disponer de un manual que explique detalladamente todos los procedimientos que se realizan en el laboratorio. Los certificados e informes deberán ser realizados siguiendo unas normas, esto es fecha, dirección del laboratorio, y la firma y fecha de la persona que aprueba o certifica los informes.

La estabilidad de las condiciones de cultivo de gametos y embriones estará asegurada si el trabajo en el laboratorio de FIV se lleva a cabo siguiendo unos requisitos que aseguren el control del trabajo rutinario del laboratorio. Aspectos como el tamaño de la plan-tilla ,equipamiento adecuado y controles de calidad son algunos de estos requisitos. El establecimiento de las condiciones óptimas de trabajo en el laboratorio de FIV es una tarea ardua y difícil, pero a las que sin duda deben tender todos los laboratorios de embriología para asegurar el éxito.

## BIBLIOGRAFÍA

1. **Munné S, Cohen J.:** Chromosome abnormalities in human embryos. *Hum Reprod Update*, 1998, 4:842-55.
2. **Almeida PA, Bolton VN.:** The effect of temperature fluctuations on the cytoskeletal organisation and chromosomal constitution of the human oocyte. *Zygote*, 1995, 3:357-65.
3. **Noda Y, Goto Y, Umaoka Y, Shiotani M, Nakayama T, Mori T.:** Culture of human embryos in alpha modification of Eagle's medium under low oxygen tension and low illumination. *Fertil Steril*, 1994, 62:1022-7.
4. **Cohen J, Gilligan, A., Schimmel, T., Cecchi, M., Wiemer, K.:** Environmental factors affecting development of embryos. *Annual Review of Preimplantation Embryology*. Cancún, Mexico, 2001, 33-40.
5. **Hall J, Gilligan A, Schimmel T, Cecchi M, Cohen J.:** The origin, effects and control of air pollution in laboratories used for human embryo culture. *Hum Reprod*, 1998, 13 Suppl 4:146-55.
6. **Whyte W.:** *Cleanroom design*. Second ed: John Wiley & Sons, 1999.
7. **Racowsky C, Jackson, KV., Nureddin A, de los Santos M.J., Kelley, J.R., Pan Y.:** Carbon-activated air filtration results in reduced spontaneous abortion rates following IVF. 11th World Congress on In Vitro Fertilization and Human Reproductive Genetics. Sydney, Australia, 1999.
8. **Ungvary G, Tatrai E.:** On the embryotoxic effects of benzene and its alkyl derivatives in mice, rats and rabbits. *Arch Toxicol Suppl*, 1985, 8:425-30.
9. **Backer LC, Egeland GM, Ashley DL, et al.:** Exposure to regular gasoline and ethanol oxyfuel during refueling in Alaska. *Environ Health Perspect*, 1997, 105:850-5.
10. **Diez U, Kroessner T, Rehwagen M, et al.:** Effects of indoor painting and smoking on airway symptoms in atopy risk children in the first year of life results of the LARS-study. *Leipzig Allergy High-Risk Children Study*. *Int J Hyg Environ Health*, 2000, 203:23-8.
11. **Cohen AJ, Pope CA, 3rd, Speizer FE.:** Ambient air pollution as a risk factor for lung cancer. *Salud Publica Mex*, 1997, 39:346-55.
12. **Hudak A, Ungvary G.:** Embryotoxic effects of benzene and its methyl derivatives: toluene, xylene. *Toxicology*, 1978, 11:55-63.
13. **Ono A, Sekita K, Ogawa Y, et al.:** Reproductive and developmental toxicity studies of toluene. II. Effects of inhalation exposure on fertility in rats. *J Environ Pathol Toxicol Oncol*, 1996, 15:9-20.
14. **Boone WR, Johnson JE, Locke AJ, Crane MMT, Price TM.:** Control of air quality in an assisted reproductive technology laboratory. *Fertil Steril*, 1999, 71:150-4.
15. **Tsutsui T, Hayashi N, Maizumi H, Huff J, Barrett JC.:** Benzene-, catechol-, hydroquinone- and phenol-induced cell transformation, gene mutations, chromosome aberrations, aneuploidy, sister chromatid exchanges and unscheduled DNA synthesis in Syrian hamster embryo cells. *Mutat Res*, 1997, 373:113-23.
16. **Brown SK.:** Chamber assessment of formaldehyde and VOC emissions from wood-based panels. *Indoor Air*, 1999, 9:209-15.
17. **Fleetham JA, Pattinson HA, Mortimer D.:** The mouse embryo culture system: improving the sensitivity for use as a quality control assay for human in vitro fertilization. *Fertil Steril*, 1993, 59:192-6.

18. **Montoro L, Subias E, Young P, Baccaro M, Swanson J, Sueldo C.:** Detection of endotoxin in human in vitro fertilization by the zona-free mouse embryo assay. *Fertil Steril*, 1990, 54:109-12.
19. **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, 47:858-60.
20. **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, 5:67-75.
21. **Rinehart JS, Bavister BD, Gerrity M.:** Quality control in the in vitro fertilization laboratory: comparison of bioassay systems for water quality. *J In Vitro Fert Embryo Transf*, 1988, 5:335-42.
22. **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, 4:545-9.
23. **Claassens OE, Wehr JB, Harrison KL.:** Optimizing sensitivity of the human sperm motility assay for embryo toxicity testing. *Hum Reprod*, 2000;15:1586-91.
24. **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, 41:202-9.
25. **van den Bergh M, Baszo I, Biramane J, Bertrand E, Devreker F, Englert Y.:** Quality control in IVF with mouse bioassays: a four years' experience. *J Assist Reprod Genet*, 1996, 13:733-8.
26. **Leveille MC, Carnegie J, Tanphaichitr N.:** Effects of human sera and human serum albumin on mouse embryo culture. *J Assist Reprod Genet*, 1992, 9:45-52.
27. **McLendon WW.:** The American Fertility Society-College of American Pathologists Collaborative Program for Accreditation of In Vitro Fertilization Embryo Laboratories. Building bridges to enhance patient care. *Arch Pathol Lab Med*, 1992, 116:317-8.
28. **Visscher RD.:** Partners in pursuit of excellence. Development of an embryo laboratory accreditation program. *Arch Pathol Lab Med*, 1992, 116:318-9.
29. **Wikland M, Sjoblom C.:** The application of quality systems in ART programs. *Mol Cell Endocrinol*, 2000, 166:3-7.
30. **Gianaroli L, Plachot M, van Kooij R, et al.:** ESHRE guidelines for good practice in IVF laboratories. Committee of the Special Interest Group on Embryology of the European Society of Human Reproduction and Embryology. *Hum Reprod*, 2000, 15:2241-6.