

کنترل کیفی در بخش جنین شناسی مراکز IVF

دکتر زهرا شمس مفرحه
متخصص بیولوژی تولید مثل
دانشیار دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

PH محیط کشت

راه های کنترل PH محیط کشت

- استفاده از محیط های بافر شده مناسب (NaHCO_3 , MOPS, HEPES)
- تنظیم و کنترل دقیق CO_2 انکوباتور
- مانیتورینگ مستقیم pH محیط کشت
- کنترل دمای انکوباتور
- محدود کردن زمان کار خارج از انکوباتور
- طراحی workflow کارآمد در IVF lab

بافرهای محیط کشت

Bicarbonate + CO₂ system

وابسته به CO₂ ۵-۶٪ در انکوباتور

مدت به تعادل رسیدن ۵۰ μl در زیر ۰.۵cm در دمای ۳۷ درجه حدود ۸ ساعت
حفظ pH ۵-۱۰ دقیقه و ریکاوری مجدد قرارگیری محیط در انکوباتور حداقل ۳۰ دقیقه

HEPES / MOPS buffers

مناسب کارهای خارج از انکوباتور micromanipulation

تأثیر روی pH	کاربرد	بافر اصلی	نوع محیط
pH وابسته به CO_2 انکوباتور و دما	کشت طولانی مدت (Blastocyst)	بی کربنات	NaHCO_3 -buffered
pH پایدار خارج از انکوباتور	دست ورزی کوتاه مدت (ICSI، بررسی جنین)	HEPES	HEPES-buffered
ثبات بهتر pH در دستکاری کوتاه مدت خارج از انکوباتور	انعطاف پذیر داخل و خارج انکوباتور	بی کربنات + HEPES	Dual-buffered (HEPES + NaHCO_3)

کنترل دقیق CO₂ انکوباتور

- ✓ تنظیم درصد CO₂ طبق دستورالعمل محیط کشت (معمولاً ۵-۶٪)
- ✓ تنظیم درصد CO₂ بر اساس ارتفاع محل آزمایشگاه از سطح دریا
- ✓ تنظیم set point انکوباتور
- ✓ تنظیم و کنترل دما ۳۷: دما روی pH تأثیر دارد
- ✓ کالیبراسیون منظم سنسور CO₂ (استفاده از انکوباتورهایی با سنسور IR)
- انکوباتورهای دارای سنسورهای (IR) infrared و یا thermal conductivity هستند
- ✓ کاهش باز شدن درب انکوباتور: در انکوباتورهای چندطبقه، تفاوت دمایی و CO₂ بین طبقات می تواند تا ۰.۲٪ باشد.
- انکوباتورهای با حجم کم (Benchtop incubator) نسبت به انکوباتورهای بزرگ، نوسانات CO₂ کمتری در زمان باز شدن درب دارند.

توصیه های کنترل کیفی

- ❑ ثبت روزانه ی دما و مقدار CO₂ نشان داده شده توسط انکوباتور
- ❑ تأیید ماهانه با آنالایزر مرجع و ثبت انحراف مجاز $\pm 0.2\%$.
- ❑ بررسی سلامت رگولاتور گاز و شیلنگ ها برای اطمینان از ثبات فشار خروجی
- ❑ تعویض دوره ای فیلترهای ورودی گاز (هر ۶ ماه) برای جلوگیری از آلودگی یا افت فشار
- ❑ جلوگیری از نوسانات دمایی هنگام باز کردن درب

پایش مستقل PH محیط کشت

❖ اندازه گیری pH محیط تعادل یافته با دستگاه pH meter (microelectrode)

❖ استفاده از pH indicator (فنول قرمز) برای تخمین غیرمستقیم pCO_2 واقعی

❖ زرد → اسیدی

❖ قرمز/نارنجی → مطلوب

❖ صورتی → قلیایی

سنجش PH محیط با دستگاه PH METER

- کالیبراسیون دقیق pH متر
- استفاده از الکترود مناسب و نمونه equilibrate شده
- قرار دادن آرام الکترود در محیط و صبر برای تثبیت عدد
- ثبت pH و مقایسه با محدوده مطلوب
- شستشوی الکترود با آب مقطر و نگهداری در محلول KCl

کنترل دما

- دما روی pH تأثیر دارد. محیط کشت باید همیشه در دمای ۳۷ درجه سلسیوس نگه داشته شود.
- افزایش دما ← افزایش تمایل CO_2 به خروج از محیط ← افزایش pH

طراحی WORKFLOW کارآمد

- زمان خروج جنین و تخمک از انکوباتور باید حداقل شود.
- محیط باید HEPES-buffered باشد تا تغییرات pH سریع کنترل شود.
- در هنگام بررسی جنین دیش در دار استفاده شود
- انکوباتورهای Benchtop
- تعداد مناسب انکوباتورها برای جلوگیری از باز و بسته شدن مکرر درب

کنترل PH و نتایج بالینی

- بهبود مورفولوژی جنین
- افزایش نرخ بلاستوسیت
- کاهش Fragmentation
- افزایش IR, CPR, LBR

سخن پایانی

کنترل دقیق pH محیط کشت کلید نامرئی موفقیت در IVF است

سپاس از توجه شما

- شما میتوانید با مراجعه به سایت آکادمی علمی راون سازه ویدیوی ضبط شده این برنامه را ببینید.
- به علاوه تمامی فایل تمامی مقالات این ارائه برای دانلود آزاد بر روی سایت قرار دارد.