



**LEITLINIE ZUM VERANTWORTLICHEN ARBEITEN**  
**IM ART-LABOR**  
**der**  
**Arbeitsgemeinschaft Reproduktionsbiologie des Menschen (AGRBM)**  
**28.03.2014**

Im Rahmen reproduktionsmedizinischer Maßnahmen kommen im ART-Labor unterschiedliche Techniken und Methoden zur Anwendung, die einer dynamischen Entwicklung unterliegen und kontinuierliche Anpassungen erfordern. Vor dem Hintergrund der EU-Richtlinie 2004/23/EG wurde die „Leitlinie zum verantwortlichen Arbeiten im ART-Labor“ erstellt, um damit Empfehlungen zur Standardisierung von grundlegenden Methoden und von Prozessabläufen zu ermöglichen. Ziel ist es, Methodensicherheit und damit letztlich Patientensicherheit zu erreichen.

Die vorliegende Leitlinie wurde von dem „Arbeitskreis Qualitätsmanagement“ der AGRBM erarbeitet und im Konsens mit dem Bundesverband Reproduktionsmedizinischer Zentren (BRZ) verabschiedet. Sie steht somit insbesondere im Schnittpunkt des ärztlichen Berufsrechts, des Familienrechts, des Sozialrechts sowie des Embryonenschutzes und des Strafrechts.

Die Leitlinie ist entsprechend dem wissenschaftlichen und methodischen Kenntnisstand und in Anpassung an gesetzliche und berufsrechtliche Vorgaben regelmäßig zu überprüfen und zu aktualisieren. Im Hinblick auf den im Embryonenschutzgesetz normierten Arztvorbehalt und die berufsrechtlichen Regelungen der beteiligten Ärzte durch ärztekammerspezifische „Richtlinien zur Durchführung der Assistierte Reproduktion“ sind Änderungen dieser Leitlinie in interdisziplinärer Abstimmung mit dem BRZ vorzunehmen.

Diese Neufassung der Leitlinie ersetzt die ursprüngliche Version vom 24.11.2006.

**Arbeitskreis Qualitätsmanagement**

Dipl. Biol. Verona Blumenauer  
(Leiterin des AK)  
Dipl. Biol. Vera Baukloh  
Dr. Annette Bonhoff  
Dipl. Biol. Claudia Grewenig  
Dr. Dagmar Gutknecht  
Dr. Ines Hoppe  
Dr. Petra Klusmann  
Dipl. Biol. Alexandra Ochsner  
Dr. Frank Tetens  
Dr. Dorothee Weiss

**Vorstand der AGRBM**

Dr. Jens Hirchenhain (1. Vorsitzender)  
Dr. Verena Nordhoff  
Dr. Roland Eid  
Dr. Simone Winkler  
Dr. Claus Sibold

**Vorstand des BRZ**

Dr. Ulrich Hilland (1. Vorsitzender)  
Dr. Andreas Jantke  
Dr. Klaus Fiedler  
Najib Nassar



## **1. Personal**

Die Zahl der Mitarbeiter muss sich am Arbeitsaufkommen des IVF-Zentrums und der „Leitlinie zur Einrichtung und Führung eines ART-Labors“ der AGRBM orientieren. Mindestens ein Mitarbeiter, der möglichst als Laborleiter benannt sein sollte, muss die Anforderungen der AGRBM zur Erlangung der Zusatzqualifikation „Fachanerkennung für Reproduktionsbiologie des Menschen“ erfüllen. Für alle neuen Mitarbeiter ist ein Einarbeitungsplan zu erstellen, der sich an den Anforderungskatalogen der AGRBM orientiert. Der Einarbeitungserfolg ist zu dokumentieren.

Die Teilnahme an internen und / oder externen Fortbildungen ist für alle Mitarbeiter zu gewährleisten und zu dokumentieren. Für akademische Mitarbeiter ist der Fortbildungskatalog der AGRBM zu erfüllen.

## **2. Laboranforderungen**

### **2.1. Umgebungsbedingungen**

Das ART-Labor muss Umgebungsbedingungen bieten, die ein einwandfreies Arbeiten sowohl hinsichtlich der Probensicherheit als auch der Personalsicherheit ermöglichen. Der Raumbedarf muss dem Arbeitsaufkommen entsprechen (siehe Leitlinie der AGRBM zur „Einrichtung und Führung eines ART-Labors“ (JRE 2004,1: 240-245.)

Der Umgang mit und die Bearbeitung von Ei- und Samenzellen erfordert keine Reinraumbedingungen. Eine dieser Leitlinie entsprechende qualifizierte Bearbeitung von Keimzellen (und Embryonen) im Sinne der Infektionsvermeidung und der Behandlungsoptimierung für die Patienten ist gegeben, wenn unter keimarmen Kulturbedingungen gearbeitet wird.

Die in § 36 Abs. 2 Nr. 2 Buchstabe b) bis d) AMWHV aufgeführten Ausnahmen von den prinzipiell geforderten Umgebungsbedingungen zur Bearbeitung menschlicher Zellen sind vollumfänglich für den Umgang mit menschlichen Keimzellen (und Embryonen) anzuwenden.

Zu Nr. 2 b: Der innerhalb einer laufenden Steril-Werkbank entstehende Luftzug kann zu einer Abkühlung der Keimzellen führen und die Integrität des empfindlichen Zytoskeletts beeinträchtigen. Darüber hinaus besteht die Gefahr des Verdunstens von Kulturmedium, wodurch sich die Osmolarität in der direkten Umgebung der Keimzellen verändert. Beide Umstände können zu irreversiblen Zellschädigungen beitragen.

Zu Nr. 2 c: Die Verwendung menschlicher Keimzellen (und Embryonen) im Rahmen einer Kinderwunschbehandlung ist in keiner Weise mit einer Transplantation vergleichbar, da die Rückführung der bearbeiteten Zellen in den Uterus der immunkompetenten Frau über eine natürliche Körperöffnung erfolgt, die natürlicherweise keimbesiedelt ist. Im Vergleich dazu ist das Risiko einer Verkeimung durch die Umgebungsbedingungen vernachlässigbar. Die Anzahl der übertragenen Zellen ist vergleichsweise gering, so dass die kritische Keimzahl zur Infektionsauslösung nicht erreicht wird. Zudem werden die Zellen unter Einsatz von antibiotikahaltigen Medien aufbereitet und in der Regel unter Öl kultiviert, so dass kein direkter Kontakt zur Umgebungsluft vorhanden ist. Faktisch beinhaltet die Anwendung von Methoden der Assistierte Reproduktion sogar ein weit geringeres Risiko der



Keimübertragung als die natürliche Zeugung. Deshalb werden beispielsweise bei der Kinderwunschtherapie HIV-diskordanter Paaren Methoden der Assistierte Reproduktion explizit empfohlen.

Zu Nr. 2 d: Die Handhabung und Beurteilung menschlicher Keimzellen (und Embryonen) erfordert den Einsatz eines Mikroskops innerhalb eines erwärmten Arbeitsfeldes. Selbst wenn eine Werkbank mit Klasse A-Spezifikation zum Einsatz kommt, bewirkt die gesamte Geräteausstattung innerhalb des Arbeitsbereiches unvermeidliche Luftverwirbelungen, die eine zuverlässige Einhaltung der Klasse A-Bedingungen zunichtemacht.

Die AGRBM schließt sich damit der bereits 2007 von der ESHRE publizierten Auslegung der EU-Richtlinie 2006/86 für den Bereich menschliche Assistierte Reproduktion an (ESHRE position paper on the EU Tissues and Cells Directive EC/ 2004/23; Nov. 2007; Air quality: Commission Directive 2006/86/EC, Annex I.D. Facilities/Premises).

Die Wirksamkeit der im jeweiligen Zentrum getroffenen Maßnahmen ist durch die systematische Erfassung von Infektionsvorfällen während der Kulturphase und von nosokomialen Infektionen nachzuweisen.

Das ART-Labor befindet sich in einem Bereich, der nur für befugtes Personal zugänglich ist. Zugangsregeln für Besucher/Handwerker/Lieferanten sind festgelegt und allen Mitarbeitern bekannt.

Das Labor ist räumlich von anderen Arbeitsbereichen zu trennen. Es sollte sich möglichst in unmittelbarer Nähe zu den Eingriffsräumen für Eizellentnahme und Embryotransfer befinden. Ist dies nicht möglich, sind geregelte Vorkehrungen für den sicheren Transport der Gameten und Embryonen unter kontrollierten Bedingungen (Temperatur, pH, Osmolarität, Transportdauer) zu treffen.

Der Gebrauch von keimzell-/embryotoxischen Stoffen, insbesondere von entsprechenden Reinigungsmitteln, ist innerhalb der Laborräume während der Bearbeitung von Fällen verboten (siehe 2.2.). Radioisotope dürfen sich niemals innerhalb der Räume des ART-Labors befinden.

Die Einhaltung der Raumlufbedingungen ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{N}_2$ ) gemäß der aktuell gültigen Arbeitsstättenverordnung 8 (ArbStättV) ist zu beachten.

Bei Neueinrichtung und Renovierung von Laboratorien sollte zusätzlich auf die Verwendung schadstoffarmer, möglichst inerter und umweltverträglicher Stoffe geachtet werden.

Die Lagerung größerer Mengen von Einwegmaterialien im Labor sollte unterbleiben, um die damit gegebenenfalls verbundene Freisetzung leichtflüchtiger Komponenten zu vermeiden.

## **2.2. Anforderungen an Hygienemaßnahmen**

Es gelten die allgemeinen Richtlinien für Hygiene und Sicherheit. Für jedes ART-Labor ist ein Hygieneplan zu erstellen. Für potentiell infektiöses Material kommt die Leitlinie „Empfehlungen zu Infektionsdiagnostik und Infektionsprophylaxe bei Verfahren der Assistierte Reproduktion“ der Arbeitsgemeinschaft für Infektionen und Infektionsimmunologie (AGII) der Deutschen Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe



(DGGG) und der Deutschen Gesellschaft für Gynäkologische Endokrinologie und Fortpflanzungsmedizin (DGGEF) zur Anwendung.

Funktionell geeignete Arbeitskleidung ist regelmäßig und bei Bedarf zu wechseln. Die fachgerechte Reinigung der Arbeitskleidung ist zu gewährleisten.

Bei allen Arbeiten mit Primärproben (Follikelflüssigkeit, Ejakulat, Urin, Gewebe) sind Handschuhe zu tragen. Handschuhe im Rahmen des Personalschutzes sollten ungepudert sein, um den Eintrag von Puderpartikeln in die Zellkulturen zu vermeiden.

Reinigungs- und Desinfektionsmittel sind zelltoxisch und stellen deshalb eine Gefahr für die Kultur von Gameten, imprägnierten Eizellen und Embryonen dar. Deshalb werden folgende Ausnahmen/Sonderregelungen von den allgemeinen Hygienerichtlinien für das ART-Labor empfohlen:

- Desinfektionsmittel sollten nicht prophylaktisch, sondern nur bei Kontamination angewendet werden. Eine hygienische Händereinigung (z.B. Wasser, Neutralseife, Einmalhandtücher) soll vor Arbeitsbeginn, bei Verlassen des Arbeitsbereiches und bei Bedarf erfolgen.
- Es dürfen möglichst nur duftstoffarme Körperpflegemittel und Kosmetika Verwendung finden. Der Eintrag von Tabakrauchrückständen in die Arbeitsräume ist zu verhindern.
- Die Flächen- und Bodenreinigung soll möglichst nur mit Wasser und Neutralseife nach Reinigungsplan durchgeführt werden. Eine Desinfektion sollte nur bei Bedarf mit nicht-flüchtigen Desinfektionsmitteln (z.B. quaternäre Ammoniumverbindungen) erfolgen.
- Bei Verdacht auf Kontamination sind Kontrollen der Keimbelastung von Händen, Arbeitsoberflächen und Brutschränken zu veranlassen und zu dokumentieren.

### **3. Geräte und Materialien**

#### **3.1. Gerätetechnische Ausstattung**

Die notwendige Mindestausstattung der Laborbereiche ergibt sich aus der „Leitlinie für die Einrichtung und Führung eines ART-Labors“ der AGRBM. Für alle Geräte mit messbaren Funktionen müssen Warn- und Eingriffsgrenzen bezogen auf den jeweiligen Sollwert des kritischen Überwachungsparameters laborintern festgelegt werden. Die Überwachung dieser Geräte erfolgt durch geeignete Prüf- und Messmittel, die gleichfalls regelmäßiger dokumentierter Überwachung unterliegen. Geeignete Zeitintervalle für Funktionsprüfungen und/oder Wartungen werden festgelegt und deren Durchführung dokumentiert.

Eine unterbrechungsfreie Stromversorgung (Notstromaggregat, USV, etc.) ist für alle wesentlichen Geräte sicherzustellen.

Für diese Geräte sollte nach Möglichkeit Ersatz vorhanden sein. Ein Notfall-Management mit einem kooperierenden Zentrum zur gegenseitigen Hilfe in Notfallsituationen wird angeraten.



### **3.2. Verbrauchsmaterialien**

Für die Arbeit mit Gameten und Embryonen sind nach Möglichkeit Einwegmaterialien zu verwenden. Soweit verfügbar sollte embryo-getesteten und / oder CE-gekennzeichneten Produkten der Vorrang gegeben werden.

Die zum Einsatz kommenden qualitätsrelevanten Einwegmaterialien sind für ihren Einsatzzweck zu validieren. Falls der Hersteller über entsprechende Zertifikate verfügt, sollte er diese unaufgefordert zur Verfügung stellen.

Die Chargennummern aller verwendeten qualitätsrelevanten Einwegmaterialien sind so zu dokumentieren, dass die Rückverfolgbarkeit zum jeweiligen Patienten gegeben ist.

### **3.3. Kulturmedien und Zusätze**

Für die in vitro-Kultur von Gameten und Embryonen dürfen nur dafür geeignete Kulturmedien und Zusätze eingesetzt werden. Die vom Hersteller angegebenen Empfehlungen bezüglich der Anwendung, der Lagerung und der Haltbarkeit sind einzuhalten.

Die Chargennummern der verwendeten Medien und Zusätze sind patientenbezogen und rückverfolgbar zu dokumentieren. Die Qualitätsprüfung der Medien und Zusätze ist (z.B. durch Herstellerzertifikate) zu belegen.

## **4. Handhabung von Gameten und Embryonen**

Die Handhabung von Gameten außerhalb des Körpers kann zum Stress der Keimzellen und damit zu einer Beeinträchtigung ihrer Funktionsfähigkeit führen.

Daher sollten die Bedingungen insbesondere für Eizelle und Embryo so gestaltet werden, dass sie den physiologischen Gegebenheiten in vivo möglichst nahe kommen. Die Handhabung sollte so wenig invasiv und die Bearbeitungszeit so kurz wie möglich sein.

Alle eingesetzten Methoden sind in Standardarbeitsanweisungen (SOPs) festzulegen und die zur Anwendung der Methoden berechtigten Personen zu bestimmen.

Durch Auswertung entsprechender Kennzahlen wird die Qualität der Arbeitsschritte bewertet, um gegebenenfalls notwendige Korrekturen durchführen zu können.

Grundsätzlich ist beim Umgang mit den Zellen folgendes zu beachten:

- Konzentriert, kontrolliert und zügig arbeiten
- Bei der Handhabung der Zellen außerhalb der Brutschränke die Parameter Temperatur, Osmolarität, pH-Wert so konstant wie möglich halten
- Regelmäßige Kontrolle der Kulturbedingungen im Brutschrank
- Art des Kulturmediums, Kulturdauer und ggf. Medienwechsel dokumentieren

Die SOPs enthalten mindestens folgende Angaben:

- Kulturbedingungen in den Brutschränken



- Handhabung der Zellen außerhalb der Brutschränke
- Kultursysteme und Kulturmedien
- zu verwendende Pipettiersysteme
- Identifikation der Arbeitsmaterialien (Chargennummern) und Proben
- Zeitschemata der einzelnen Kulturschritte
- Durchführende Person
- Vorgehen bei unerwarteten Ereignissen
- Dokumentationsvorschriften

## **5. Dokumentation und Probenidentifikation**

### **5.1. Allgemeine Dokumentation**

Die Dokumentation aller durchgeführten Arbeitsschritte bei der Handhabung von Gameten, imprägnierten Eizellen und Embryonen hat so zu erfolgen, dass mindestens folgende Angaben stets vorhanden sind:

- Identität und Verbleib der Proben (Gameten, imprägnierte Eizellen, Embryonen)
- Art des / der Arbeitsschritt/e
- Verwendete Materialien / Medien
- Durchführende Person(en)
- Zeit und ggf. Dauer der Durchführung
- Qualität der Gameten / Embryonen zum jeweiligen Beobachtungszeitpunkt
- Auftreten unerwarteter Ereignisse und Vorgehensweise

Die Dokumentation erfolgt schriftlich.

Während der gesamten Aufbewahrungsfrist der Dokumente und Aufzeichnungen ist eine Nachverfolgbarkeit von Änderungen zu gewährleisten. Aufzeichnungen sind so zu führen, dass sie lesbar, unauslöschlich und jederzeit auffindbar sind. Sie dürfen handgeschrieben sein oder auf ein anderes System wie ein Computerprogramm oder Mikrofilm übertragen werden.

### **5.2. Identifikation der Patienten**

Besondere Sorgfalt ist an der Schnittstelle Patient / Probenidentifikation nötig. Bei jeder Probenentnahme und vor dem Embryotransfer muss eine aktive Patientenidentifikation durch eine der beteiligten Personen vorgenommen und dokumentiert werden.

### **5.3. Identifikation der Proben**

Alle Probengefäße müssen eindeutig, gut lesbar und dauerhaft beschriftet werden. Beim Zusammenführen von Proben (Insemination/ Injektion) ist eine sichere Probenzuordnung zu gewährleisten.



## 6. Methodensicherheit

Alle angewendeten kritischen Methoden sollten auf international anerkannten Standardverfahren beruhen. Sie müssen im eigenen Labor vor ihrer Einführung als Routinemethode freigegeben werden und sind darüber hinaus regelmäßig kritisch zu bewerten, um sicherzustellen, dass sie weiterhin die angestrebten Ergebnisse erzielen. Dafür werden die Methoden anhand geeigneter Kennzahlen eingeschätzt.

Die Vergleichbarkeit der Arbeitsqualität aller beteiligten Mitarbeiter wird ebenfalls in geeigneten Intervallen überprüft, gegebenenfalls sind Nachschulungen zu veranlassen. Zur Qualitätssicherung sollten die Möglichkeiten der internen und externen Qualitätskontrollen/ Ringversuche genutzt werden.

## 7. Andrologie

Alle eingesetzten Methoden sind in Arbeitsanweisungen (SOPs) festzulegen und die zur Durchführung berechtigten Personen zu bestimmen.

Besonderer Wert ist auf die Sicherstellung der Probenzugehörigkeit (Identität des „Spenders“, zugehörige Partnerin) zu legen. Die Bewertung der Ejakulat- und Spermienqualität orientiert sich am aktuellen WHO-Laborhandbuch.

### a. Spezifische Inhalte der Standardarbeitsanweisungen:

- Spermioigrammerstellung
- Annahme und ggf. Weiterleitung von Proben inklusive Transportbedingungen
- Annahme und Aufbereitung operativ gewonnener, frischer und /oder kryokonservierter Spermatozoen/ Hodengewebe
- Aufbereitungsmethoden der Spermien für AIH, AID, IVF, ICSI
- Kryokonservierung von Spermien/ von operativ gewonnenem Material
- Vorgehensweise bei unerwarteten Ereignissen
- Dokumentation der wesentlichen Parameter mit verwendeten Materialien, durchführender Person und Bearbeitungszeit

### 7.2. Spezielle Dokumentation:

- Probenidentität und Parameter der nativen Probe: Volumen, Viskosität, Konzentration, Motilität, ggf. Morphologie
- Aufbereitungsmethode
- Verbleib der Probe

## 8. ART- Methoden

### 8.1. Identifizierung und Bearbeitung der Eizell-Cumulus-Komplexe

Während der Eizellsuche sollte die Möglichkeit zur Kommunikation mit den Personen im



Entnahmeraum bestehen. Die Isolierung der Eizell-Cumulus-Komplexe sollte unter geeigneten Bedingungen so schnell wie möglich nach der Entnahme erfolgen.

### **8.1.1. Spezifische Inhalte der Standardarbeitsanweisungen:**

- Durchführung der Eizellsuche
- Überführung in das Kultursystem je nach weiterer Verwendung der Eizellen

### **8.1.2. Spezielle Dokumentation**

- Anzahl der Eizell-Cumulus-Komplexe
- Auffälligkeiten

## **8.2. IVF- Insemination**

Die Insemination der Eizellen erfolgt, wenn aufgrund der Merkmale von Eizelle und Spermien eine Fertilisation zu erwarten ist. Insbesondere die Spermienparameter sollten den geforderten Mindestanforderungen genügen. Die Durchführung der Insemination hat in einem geeigneten Zeitfenster mit geeigneter Spermienkonzentration und -motilität zu erfolgen.

### **8.2.1. Spezifische Inhalte der Standardarbeitsanweisungen:**

- Standards für die Insemination und Kriterien für deren Anwendung
- Durchführung der Insemination

### **8.2.2. Spezielle Dokumentation:**

- Gesamtzahl oder Konzentration der zu den Cumulus-Komplexen zugegebenen motilen Spermien

## **8.3. ICSI**

Die intrazytoplasmatische Spermieninjektion (ICSI) ist eine Form der extrakorporalen Befruchtung, bei der ein Spermatozoon - nach vorbereitender Präparation (siehe Pkt.7.) - in eine reife Eizelle (Metaphase II) injiziert wird.

### **8.3.1. Spezifische Inhalte der Standardarbeitsanweisungen:**

- Denudierung der Eizellen
- Durchführung der ICSI

### **8.3.2. Spezielle Dokumentation:**

- Reifegrad der Eizellen
- Anzahl der mit Spermien injizierten Eizellen
- Verbleib der Eizellen
- Auffälligkeiten





#### **8.4. Fertilisationskontrolle/ PN-Grading**

In der Regel 16 bis 20 Stunden nach Insemination bzw. Injektion der Eizellen sollte die Fertilisationskontrolle durchgeführt werden.

##### **8.4.1. Spezifische Inhalte der Standardarbeitsanweisungen:**

- Denudierung der Eizellen nach IVF ohne ICSI
- Kriterien der Beurteilung nach einem anerkannten Grading-System (zumindest Anzahl der Vorkerne, ggf. Grading der Vorkerne, ggf. Auffälligkeiten)
- Weiterbehandlung der Zellen (Kultur, Kryokonservierung, Verwerfung)
- Vorgehen bei unzureichendem oder unklarem Befruchtungsergebnis

##### **8.4.2. Spezielle Dokumentation:**

- Anzahl der 2 PN /  $\geq$  3PN / 1 PN / 0 PN / unreifen Eizellen/ degenerierten Eizellen
- Verbleib der Zellen
- Auffälligkeiten

#### **8.5. Embryobeurteilung und -grading**

Die Beurteilung der morphologischen Qualität der in vitro-kultivierten Embryonen kann wichtige Hinweise auf ihre Entwicklungskompetenz geben.

##### **8.5.1. Spezifische Inhalte der Standardarbeitsanweisungen:**

- Beurteilung nach anerkannten Grading-Systemen
- Weiterbehandlung der Zellen

##### **8.5.2. Spezielle Dokumentation:**

- Kulturdauer
- Anzahl der Blastomeren (Entwicklungsgeschwindigkeit)
- Umfang und Verteilung von Fragmenten
- Fakultativ: zytoplasmatische Besonderheiten (Vakuolen, Granulierungen), Vorhandensein und Zahl von multinukleären Blastomeren, Dicke und Besonderheiten der Zona pellucida

#### **8.6. Zusatzmaßnahmen**

Zusätzliche Maßnahmen, die entsprechend besonderer Indikationsstellung bei der Bearbeitung von Keimzellen durchgeführt werden, müssen dokumentiert werden. Methoden, die darüber hinaus spezifischen Regelungen durch gesetzliche Vorgaben unterliegen, müssen unter Beachtung dieser Vorgaben ausgeführt werden.

##### **8.6.1. Spezifische Inhalte der Standardarbeitsanweisungen:**

- Kriterien für den Einsatz der Methode

- -



- Durchführung der Zusatzmaßnahme

#### **8.6.2. Spezielle Dokumentation:**

- Auffälligkeiten

### **8.7. Embryotransfer**

Das Ziel des Embryotransfers ist das Übertragen der Embryonen in das Cavum uteri.

#### **8.7.1. Spezifische Inhalte der Standardarbeitsanweisungen:**

- Aufnehmen der Embryonen in den Transferkatheter und ggf. Durchführung des Transfers

#### **8.7.2. Spezielle Dokumentation:**

- Anzahl und Qualität der transferierten Embryonen
- Vorgehen bei Nichtdurchführbarkeit des Embryotransfers zum geplanten Zeitpunkt
- Auffälligkeiten

### **8.8. Implementierung neuer Methoden**

Neue Methoden müssen durch dafür qualifiziertes Personal erarbeitet, validiert und freigegeben werden. Die Vorgehensweise für diesen Prozess der Implementierung ist schriftlich festzulegen.

Vor der Implementierung einer Methode ist eine umfassende Literaturrecherche über bereits vorliegende Erfahrungen und Ergebnisse durchzuführen, dabei sollten kontrollierte Studien die Grundlage bilden. Nach Möglichkeit sollte vorab eine Hospitation in einem Labor, das diese Methode bereits erfolgreich durchführt, erfolgen. Eine Schulung oder ein Kursus bei entsprechenden Spezialisten kann ebenfalls als Vorbereitung dienen.

#### **8.8.1. Material**

Vor Einführung einer neuen Methode sollten der Bedarf und der Aufwand geklärt sein. Die Validierungsphase kann auch mit nicht CE-gekennzeichneten Materialien durchgeführt werden, für den späteren Routineeinsatz muss jedoch die Verfügbarkeit geeigneter, möglichst CE-gekennzeichneter Materialien abgeklärt sein.

#### **8.8.2. Geräte und Ausstattung**

Die notwendige gerätetechnische Ausstattung muss vor Implementierung einer Methode gesichert sein und ist am erwarteten Bedarf auszurichten. Es muss gesichert sein, dass etwaige Anforderungen an besondere Umgebungsbedingungen erfüllt werden können. Bedeutet die neue Methode einen erheblichen Arbeitsaufwand muss darüber hinaus dafür gesorgt sein, dass der Personalbestand den erwarteten Mehraufwand decken kann.



### **8.8.3. Arbeitsschritte**

Die Validierung einer neuen Methode orientiert sich am PDCA-Zyklus (Plan-Do-Check-Act). Die Planung (Plan) legt verantwortliche Mitarbeiter, Ergebnisanforderung und –ziel, Zeitdauer der Validierung und die Art der Aus- und Bewertung anhand von Kennzahlen fest. Nach Durchlaufen der Versuchsphase (Do) werden die Ergebnisse hinsichtlich der Erwartungen überprüft (Check). Nach Bedarf kann eine erweiterte oder ergänzende Versuchsphase angeschlossen werden (erneutes Plan-Do), aufgrund derer die endgültige Bewertung schriftlich festgehalten wird (Check). Auf dieses Vorgehen gründet sich die abschließende Entscheidung über Ablehnung oder Aufnahme der Methode in das Routineprogramm (Act).

Nach ihrer Implementierung ist die Methode in der ersten Anwendungsphase noch weiter engmaschig anhand mindestens einer geeigneten Kennzahl zu verfolgen und zu bewerten. Das Bewertungsintervall wird im weiteren Verlauf dem der anderen Routinemethoden angeglichen.

### **8.8.4. Dokumentation**

Die Nachweise über die Vorbereitungen, Grundlagen und Schulungen bezüglich der geplanten Methode sind festzuhalten.

Die Validierung der Methode muss nach einem schriftlich zu fixierenden Plan mit Festlegung der zu bearbeitenden Probenzahl und den verantwortlich Durchführenden erfolgen. Die Aufzeichnungen sind zu ergänzen um Messwerte, Beobachtungen und Bewertungen. Die endgültige Freigabe der Methode und damit die Aufnahme in das Spektrum der angebotenen Methoden müssen ebenfalls schriftlich erfolgen und allen Beteiligten und Anwendern zur Kenntnis gebracht werden. Zur Aufnahme in die Routine müssen die Dokumentationsform sowie mindestens eine Kennzahl zur Qualitätsbewertung festgelegt sein. Über den Durchführungsablauf der Methode ist eine SOP zu erstellen.

Die Einarbeitung der Mitarbeiter in die neue Methode muss durch eine Person erfolgen, die bereits praktische Erfahrung sammeln konnte, die Freigabe der eingearbeiteten Mitarbeiter muss dokumentiert werden.

## **9. Kryokonservierung**

In der Regel werden im ART-Bereich Partnerspenden von Gameten gemäß Definition der EU-Richtlinie 2006/17/EG für die Kryokonservierung angenommen, gelagert und mit unterschiedlichen Verfahren bearbeitet.

Bei der Kryokonservierung von Gameten/imprägnierten Eizellen/Embryonen/ Hodengewebe muss im Vorfeld sichergestellt werden, dass alle spenderspezifischen Voraussetzungen von ärztlicher Seite überprüft und dokumentiert wurden.

Die Bestimmungen der TPG-Gewebeverordnung (TPG-GewV) und AMWHV sind bei der Lagerung von Gameten zur Partnerspende u.a. hinsichtlich durchzuführender serologischer Untersuchungen zu beachten.

Die Benutzung geeigneter Verschluss-Systeme ist empfehlenswert. Die Verwendung von Probengefäßen mit CE-Kennzeichnung ist generell zu bevorzugen. Kryokonservierung und



Auftauen erfolgen nach anerkannten Methoden mit geeigneten Medien, Gefrierschutzmitteln und Geräten.

Die Weiterverarbeitung von Proben, die zum Zeitpunkt der Kryokonservierung mit HIV 1,2, Hepatitis B oder Hepatitis C belastet sind, sollte in dazu speziell ausgestatteten ART-Laboren erfolgen (gemäß der Leitlinie „Empfehlungen zu Infektionsdiagnostik und Infektionsprophylaxe bei Verfahren der Assistierte Reproduktion“).

Bei der Annahme, Lagerung und Verarbeitung von kryokonservierten Gameten nach Drittspende sind die besonderen Anforderungen der TPG-GewV und AMWHV zu erfüllen.

### **9.1. Standardarbeitsanweisungen**

In schriftlichen Arbeitsanweisungen sind alle relevanten Arbeitsschritte zu regeln:

- Identifizierung und Zuordnung von Patient / Spender und Proben
- Kriterien für die Auswahl der Zellen /Gewebe zur Kryokonservierung
- Kennzeichnung der Kryoröhrchen /-straws
- Durchführung der Kryokonservierung
- Überführung in das Kryolager
- Betrieb des Kryolagers einschließlich der Lagerverwaltung
- Entnahme aus dem Lagersystem
- Auftauen der Proben
- Versand von Kryoproben in andere Einrichtungen
- Annahme von Kryoproben aus anderen Einrichtungen
- Behandlung von Aufträgen zur Auflösung eines Kryo-Depots
- Festlegung der Vorgehensweise bei Unauffindbarkeit der Proben

### **9.2. Kennzeichnung von Kryoproben**

Besondere Sorgfalt ist auf eine eindeutige Kennzeichnung aller einzufrierenden Proben zu verwenden. Die Nachverfolgbarkeit aller Proben muss zu jeder Zeit gewährleistet sein.

Dies ist über die Beschriftung der Kryoröhrchen und entsprechende Aufzeichnungen zu gewährleisten.

Die Beschriftung der Behältnisse sollte mit einem maschinellen System direkt oder auf kryotauglichen Etiketten erfolgen.

#### **9.2.1. Kennzeichnung der Kryoröhrchen /-straws:**

- Patientenidentität (Name, Vorname, Geburtsdatum, ggf. einrichtungsinterne ID), auch in codierter Form
- Einfrierdatum
- Art des Einfriergutes (Spermien, Eizellen, PN-Zellen, Embryonen, Gewebe)
- ID des Röhrchens/ Straws

#### **9.2.2. Dokumentation:**

- Patientenidentität (Name, Vorname, Geburtsdatum)



- Bei Partnerspende: Partneridentität (Name, Vorname, Geburtsdatum)
- Einrichtungsinterne ID-Nr. von Patient und ggf. Partner
- Name der kryokonservierenden Einrichtung (ggf. ID der Einrichtung),
- Identität der die Kryokonservierung durchführenden Person mit Unterschrift
- Beschreibung und Identifizierung der kryokonservierten Zellen / Hodengewebe, ggf. zur Vorbehandlung benutzte Kulturmedien
- Ausgangsspermiogramm und ggf. Aufbereitungsergebnis bei Spermien
- Anzahl und Reifestadium bei Eizellen
- Anzahl und ggf. Scoring bei 2 PN-Zellen
- Anzahl und Entwicklungsstadium und ggf. Grading bei Embryonen
- Art und Vorbereitung bei Hodengewebe
- Datum und verwendetes Einfrierverfahren
- Verwendete Reagenzien und Medien (insbesondere Kryoprotektiva)
- Kurzbeschreibung des Kryo-Programms

### **9.3. Versand von Kryoproben**

Zum Transport verwendete Behälter müssen dafür geeignet sein und die gesetzlichen Sicherheitsbestimmungen erfüllen.

Transportbehälter müssen mit folgenden Beschriftungen versehen und sicher verschlossen sein:

- Identifizierung der versendenden Einrichtung mit Adresse und Telefonnr.
- Identifizierung der empfangenden Einrichtung mit Adresse und Telefonnr.
- Hinweis: „Vorsicht menschliche Zellen / Gewebe“, „Nicht bestrahlen“, „Aufrecht stellen“, „Nicht öffnen“, „Nicht erwärmen“

#### **9.3.1. Dokumentation**

Zusätzlich zur oben genannten Dokumentation sind beim Versand von Kryoproben Name und Telefonnummer der Kontaktpersonen in Herkunfts- und Zieleinrichtung der Kryoproben anzugeben. In einem Begleitbrief sind aufzuführen Angaben zu:

- dem/den Gametenspender(n) mit Name, Vorname, Geburtsdatum und Wohnort
- dem Datum der Kryokonservierung
- dem verwendeten Kryoprotektivum
- Verwendungszweck der Spende
- der Anzahl versandter Straws/Vials
- durchgeführten serologischen Untersuchungen mit Datum und Ergebnis