

CAPITOLO 6

TRACCIABILITÀ NEL LABORATORIO DI FECONDAZIONE IN VITRO E CODIFICA

SANDRINE CHAMAYOU

*Unità di Medicina della Riproduzione- Centro HERA
Sant'Agata Li Battiati (CT)*

0. RIFERIMENTO DI LEGGE

Il decreto legislativo del 25 gennaio, n.16 (così come modificato dal D. Lgs. 85/2012) **Attuazione delle direttive 2006/17/CE e 2006/86/CE, che attuano la direttiva 2004/23/CE per quanto riguarda le prescrizioni tecniche per la donazione, l'approvvigionamento e il controllo di tessuti e cellule umani, nonché per quanto riguarda le prescrizioni in tema di rintracciabilità, la notifica di reazioni ed eventi avversi gravi e determinate prescrizioni tecniche per la codifica, la lavorazione, la conservazione, lo stoccaggio e la distribuzione di tessuti e cellule umani.** [GU n. 40 del 18-2-2010](#), definisce

h) **rintracciabilità**: la possibilità di ricostruire il percorso di tessuti o cellule in ogni fase dell'approvvigionamento, della lavorazione, del controllo e dello stoccaggio fino alla distribuzione al ricevente o allo smaltimento, compresa la possibilità di risalire all'identificazione del donatore, dell'istituto dei tessuti o del centro di produzione che ricevono, o lavorano o stoccano i tessuti o le cellule, nonché, a livello delle strutture sanitarie, la possibilità di individuare i responsabili che applicano i tessuti o le cellule sui riceventi. Tale rintracciabilità riguarda anche la possibilità di reperire e identificare tutti i dati pertinenti relativi ai prodotti e ai materiali che vengono in contatto con detti tessuti o cellule

1. TRACCIABILITÀ DEL MATERIALE

Per ogni materiale di consumo utilizzato nel laboratorio di fecondazione *in vitro*, un registro di gestione dei prodotti deve essere tenuto costantemente aggiornato. Per ogni prodotto vanno registrati il codice, la ditta produttrice, la scadenza, l'inizio uso e la fine d'uso. Queste informazioni possono essere registrate su una scheda o un registro e possono essere utili anche per la gestione delle quantità in giacenza e dello stock di riordino.

Se un registro di gestione dei prodotti non esiste nel laboratorio, il nome, il codice, il numero di lotto e la scadenza del prodotto devono essere indicati sulla scheda di laboratorio di ogni paziente.

L'utilizzo di ogni prodotto (per esempio il terreno di coltura) è specificato nei protocolli del laboratorio.

Un esempio di scheda di gestione del prodotto/materiale è il seguente:

Gestione Prodotti

PROD: _____ Cod: _____ Ditta: _____	SCORTA MINIMA: _____
MAGAZZINO: _____ OPERATORE: _____	STOCK DI RIORDINO: _____
	CONTROLLO GIACENZA: _____

LOTTO	SCADENZA	INIZIO USO	FINE USO	GIACENZA									
				Data	Data	Data	Data	Data	Data	Data	Data	Data	
				Quantità	Quantità	Quantità	Quantità	Quantità	Quantità	Quantità	Quantità	Quantità	Quantità

Un'altra possibilità è annotare sul registro/scheda del laboratorio e per ogni paziente il nome e il lotto di ogni materiale in contatto con i gameti o gli embrioni.

Una terza possibilità è di compilare giornalmente una scheda del materiale utilizzato precisando la tipologia di materiale e il numero di lotto. Questa scheda deve essere datata, numerata e conservata dal personale del laboratorio. Sul registro o la scheda del paziente, devono essere riportati il numero e la data della scheda del materiale.

Un esempio di lista del materiale che deve essere registrato è la seguente:

- ago del prelievo ovocitario,
- tutti i terreni di coltura in contatto con gli ovociti e gli embrioni (flushing, terreni sequenziali, ialuronidasi etc.),
- i terreni per la selezione e la coltura degli spermatozoi,
- kit/terreni di congelamento,
- kit/terreni di scongelamento.
- catetere,
- materiale di plastica o vetro (provette, piastre, siringhe, paillette, tip di denudazione, pipette Pasteur...)

Per un terreno di coltura preparato 'in casa', nella scheda del terreno devono essere indicati il protocollo utilizzato per la sua preparazione, l'elenco e il numero di lotto di ogni ingrediente utilizzato, la data e l'operatore che ha eseguito la preparazione, la scadenza. Nel registro/scheda del laboratorio di fecondazione in vitro, deve essere riportata il numero della scheda del terreno preparato 'in casa'.

2. TRACCIABILITÀ DEI GAMETI E DEGLI EMBRIONI

Gli ovociti, spermatozoi, zigoti ed embrioni devono essere tracciati dalla loro produzione/prelievo fino alla determinazione del loro destino (uso clinico, crioconservazione o scarto). Il decreto legislativo del 25 gennaio 2010, n. 16 specifica nell'articolo 3:

5. Il responsabile dell'istituto dei tessuti, in accordo con l'organizzazione per l'approvvigionamento definisce procedure operative standard, in seguito indicate come «POS», al fine di verificare:
- a) l'identità' del donatore;
 - b) la documentazione relativa al consenso informato, o all'espressione di volontà o all'autorizzazione alla donazione da parte del donatore o della sua famiglia;

Il personale di laboratorio deve assicurarsi che ciascun paziente abbia firmato il consenso alla procedura ed in particolare alla crioconservazione dei suoi gameti e degli embrioni prodotti in comune. L'identità della paziente è inizialmente verificata, seconda modalità specificata in una procedura, dal personale infermieristico o altro personale specificato del Centro durante l'accesso nella struttura sanitaria. In aggiunta, il personale di laboratorio deve applicare una procedura operativa standard d'identificazione diretta della paziente prima del prelievo ovocitario (prima dell'anestesia generale) e prima del trasferimento embrionale.

L'accettazione del liquido seminale deve essere fatta secondo una procedura definita dal centro. Nel caso di liquido seminale raccolto fuori della struttura, questo deve essere accompagnato da un modulo di consegna dove il paziente autocertifica che il campione contenuto all'interno del contenitore è stato prodotto da lui ed è consapevole che questo campione verrà utilizzato o per la tecnica di fecondazione *in vitro* da specificare o per l'autoconservazione. Il modulo deve essere firmato dal paziente con la fotocopia di un documento d'identità allegata e la firma di chi ha verificato l'identità del paziente (per esempio il personale di segreteria).

Lo stesso modulo deve essere compilato qualora il campione sia stato prodotto nella struttura sanitaria. In entrambi i casi, il modulo compilato deve essere conservato presso la struttura sanitaria.

In una scheda di laboratorio e/o in registri cartacei e/o informatici del laboratorio, devono essere indicati tutti i passaggi e le lavorazioni che i gameti/embrioni subiscono e fanno, in particolare l'evoluzione di ogni ovocita, zigote, embrione e l'utilizzo del campione di spermatozoi, i protocolli di lavorazione che sono stati applicati, dove e come è stato conservati e stoccati, il destino (utilizzato, mantenuto, trasferito, conservato, scartato) e l'identità dell'operatore che ha eseguito ogni passaggio, gli orari.

Alla fine del trattamento *in vitro*, deve essere compilata una relazione scritta che cita le procedure (es. FIV, ICSI, IMSI...) che il personale di laboratorio ha eseguito sul materiale cellulare del/la paziente/coppia e dov'è chiaramente specificato il destino di ogni ovocita, zigote, embrione, campioni di spermatozoi (traferito, congelato, eliminato per arresto dello sviluppo...). Questa relazione è resa disponibile nella cartella del/la paziente/coppia. Nella relazione consegnata dal medico al/la paziente/coppia deve essere chiaramente specificato eventuale materiale cellulare crioconservato e ancora a disposizione nell'istituto dei tessuti.

Il decreto legislativo del 25 gennaio 2010, n. 16 specifica nell'articolo 6 :

<p>Il responsabile dell'istituto dei tessuti, in accordo con l'organizzazione per l'approvvigionamento definisce altresì POS relative all'approvvigionamento, confezionamento, etichettatura e trasporto dei tessuti e delle cellule fino alla destinazione presso l'istituto dei tessuti o, in caso di distribuzione diretta di tali materiali, presso l'equipe clinica responsabile della loro applicazione, ovvero, in caso di campioni di tessuti e cellule, presso il laboratorio per il controllo, in conformità all'articolo 5.</p>
--

Tutti i contenitori (provetta/piastra/paillette o altro) contenente la/e cellula/e riproduttiva/e, lo zigote, l'embrione, devono riportare i dati identificativi del soggetti interessato (nome, cognome, data di nascita e/o codice identificativo) prima che il campione venga depositato in esso.

I dati identificativi dei soggetti da cui provengono i gameti o da cui sono stati generati gli embrioni devono essere accuratamente registrati ed i campioni etichettati in modo da non consentire alterazioni non autorizzate o non riconoscibili.

In caso di pazienti con markers infettivi positivi, è consigliabile che il personale del laboratorio riporti questi dati su ogni modulo e registro utilizzati nella lavorazione, la conservazione, lo stoccaggio e la distribuzione di questo materiale cellulare o di quello che ne risulta (zigote, embrione).

3. TRACCIABILITÀ DEGLI OPERATORI

Ogni operatore del laboratorio che riceve materiale cellulare (es. spermatozoi dal paziente che lo consegna o ovociti durante il prelievo ovocitario) deve indicare sul modulo e il registro del laboratorio che ha ricevuto questo materiale (firma o sigla dell'operatore), l'ora e qualunque non conformità nella modalità di ricezione di questo materiale o nello stoccaggio del materiale cellulare.

In ogni modulo e registro (cartaceo e informatico) che tracciano la lavorazione, la conservazione, lo stoccaggio e la distribuzione del materiale cellulare, il nome o la firma dell'operatore che ha eseguito la procedura deve essere chiaramente identificabile.

Nel caso di registri informatici, è necessario che l'accesso avvenga tramite password personale; si consiglia d'istaurare un sistema che permetta di registrare gli accessi e le modifiche fatte da ciascun operatore, prevedendo anche livelli diversi di accesso e modifica dei dati.

4. TRACCIABILITÀ DEI DATI AMBIENTALI

I dati ambientali ed ogni scostamento dai parametri stabiliti devono essere monitorati. È particolarmente importante nella PMA monitorare anche la temperatura dell'ambiente del laboratorio dove si lavorano le cellule, nonché delle attrezzature (cappe, incubatori...), dal momento che la stabilità della temperatura incide in modo importante sulla qualità dello sviluppo embrionario.

Di conseguenza, devono essere registrati i seguenti parametri:

- temperatura del laboratorio di fecondazione in vitro e della sala operatoria;
- temperatura di piano riscaldato, termoblock (del laboratorio e della sala operatoria), frigorifero, congelatore;
- temperatura, percentuale di CO₂, percentuale d'O₂ per quanto riguarda gli incubatori.

Le procedure operative standard devono stabilire la modalità e la frequenza dei parametri da registrare. Sul modulo da compilare per la registrazione del dato, deve essere rilevabile tramite firma o sigla o altro sistema anche informatico l'operatore che ha effettuato il controllo, quando e come è stato effettuato. Si consiglia inoltre di riportare nel modulo i valori soglia che non devono

essere superati (limiti di accettabilità). La registrazione dei parametri critici può essere effettuata tramite sistemi di controllo elettronici o integrati all'apparecchiatura.

Si consiglia di monitorare la temperatura anche nell'ambiente dove sono conservati i contenitori di azoto liquido, al fine di valutare e tenere sotto controllo un'eventuale eccessiva evaporazione di azoto liquido.

Un esempio di modulo di registrazione è il seguente:

RILEVAZIONE TEMPERATURA																												
		<input type="checkbox"/> CONGELATORE		<input type="checkbox"/> INCUBATORE		n.		Matricola:																				
ANNO:						TEMPERATURA D'ESERCIZIO				TOLLERANZA AMMESSA																		
N. INV.						PRESSIONE CO ₂ D'ESERCIZIO				TOLLERANZA AMMESSA																		
						PRESSIONE O ₂ D'ESERCIZIO				TOLLERANZA AMMESSA																		
GIORNO	TEMPERATURA / PRESSIONE CO ₂																											
	GENNAIO				FEBBRAIO				MARZO				APRILE				MAGGIO				GIUGNO							
	C	O	H	Te	C	O	H	Te	C	O	H	Te	C	O	H	Te	C	O	H	Te	C	O	H	Te				
	o ₂	2	2	m	o ₂	2	2	m	o ₂	2	2	m	o ₂	2	2	m	o ₂	2	2	m	o ₂	2	2	m	o ₂	2	2	m
	O		p	O		p			O		p	O		p	O		p	O		p	O		p	O		p		
1																												
2																												

5. TRACCIABILITÀ DELLA STRUMENTAZIONE UTILIZZATA

Ogni apparecchiatura critica che viene utilizzata nella lavorazione, la conservazione, lo stoccaggio e la distribuzione del materiale cellulare deve essere registrata sui moduli e i registri di laboratorio. S'intende per apparecchiatura critica in primo luogo l'apparecchiatura per la quale è necessario che i valori di funzionamento siano tarati su un determinato valore ambientale (temperatura, CO₂, O₂, N₂, umidità), per la quale lo scostamento da questi parametri può determinare un danno importante nelle cellule lavorate. Di conseguenza, i valori dei parametri di ogni piano riscaldante (se più di uno nel laboratorio), ogni termoblock (se più di uno nel laboratorio), ogni incubatore (se più di uno nel laboratorio), ogni contenitore d'azoto liquido (se più di uno nel centro) devono essere tracciati.

Nel caso in cui due o più interventi della stessa natura (es.: prelievi ovocitari) sono in atto nello stesso momento nel laboratorio, la postazione di lavoro di ogni seduta deve essere tracciata e registrata sui moduli e registri del laboratorio.

6. CODIFICA

Il decreto legislativo del 25 gennaio 2010, n. 16 specifica nell'articolo 15 :

Sistema europeo di codifica

1. Conformemente alle previsioni di cui all'articolo 8, comma 6, del decreto legislativo n. 191 del 2007, a ciascun materiale donato e' attribuito un codice d'identificazione unico europeo, al fine di

garantire un'adeguata identificazione del donatore e la rintracciabilità di tutti i materiali donati, nonché di fornire informazioni sulle caratteristiche e proprietà fondamentali dei tessuti e cellule. Il codice comprende almeno le informazioni di cui all'allegato XI.

Nell'allegato XI è precisato:

Informazioni contenute nel sistema di codifica europeo (art. 15)

a) Identificazione della donazione:

- numero unico d'identificazione della donazione;
- identificazione dell'istituto dei tessuti.

b) Identificazione del prodotto:

- codice del prodotto (nomenclatura di base);
- numero specifico della sottopartita (se necessario);
- data di scadenza.

Nessuna codifica ufficiale europea o nazionale è attualmente in atto. Ogni laboratorio deve mettere a punto un sistema di codifica interno inequivocabile che permetta di tracciare:

- la persona/coppia a cui appartengono le cellule/embrioni,
- la tipologia di cellule o del materiale conservato (ovociti, spermatozoi, embrioni, tessuto riproduttivo...),
- il numero del trattamento di riferimento (FIV, ICSI, IMSI, congelamento, scongelamento, diagnosi genetica di preimpianto, PESA,...),
- il numero identificativo del materiale (nel caso di ovociti ed embrioni).

Il personale del laboratorio deve essere particolarmente attento che la metodica utilizzata per tracciare il materiale (es. inchiostro o etichetta) sia resistente ed indelebile in tutte le condizioni ambientali e di temperatura alle quale la parte esterna del contenitore verrà sottoposto (es. immersione in azoto liquido, esposizione a 37°C, esposizione a -196°C). Il numero identificativo o codice generato deve essere di facile lettura e comprensione da tutti gli operatori del laboratori. Una procedura di decodifica del codice deve essere disponibile al personale del laboratorio.

Un esempio di codifica del materiale biologico è il seguente:

- per gli spermatozoi :

ID del paziente/nome e cognome/data di nascita/tipologia di cellule (spermatozoi)/tipo di trattamento/numero di riferimento del trattamento

- per gli ovociti :

ID della paziente/nome e cognome/data di nascita/tipologia di cellule (ovocita)/tipo di trattamento/numero di riferimento del trattamento /ID dell'ovocita

- per gli embrioni

ID della coppia/nome di lei/data di nascita di lei/nome di lui/data di nascita di lui/tipologia di cellule (embrione)/tipo di trattamento/numero di riferimento del trattamento/ID dell'embrione

7. ESEMPIO DI SCHEDA DI LABORATORIO

<u>SCHEDA DEL LABORATORIO IN VITRO</u>						
ID Coppia:			Data:			
Lei: Cognome/Nome/Data di Nascita/Anni/Numero di telefono						
Lui: Cognome/Nome/Data di Nascita/Anni/Numero di telefono						
Range di trattamento <i>in vitro</i>						
Sterilità:						
Protocollo di stimolazione ormonale/Farmaci utilizzati/Dosaggi/Ultimo valore dell'Estradiolo/Ora dell'ovulazione						
N. del registro o del trattamento odierno		FIV n.		ICSI n.		
GD						
OVOCITI: freschi <input type="radio"/>		Ov. Scongelati <input type="radio"/>		Scongelo n.:		
<u>Prelievo ovocitario:</u>						
Operatore biologico						
Operatore medico						
Utilizzo di flusing						
Ora dell'inizio del prelievo ovocitario						
DEST.: N COCC. tipo 1; N COCC. tipo 2; N COCC. tipo 3; N COCC. tipo 4; N COCC. tipo 5; COCC. tipo 6						
SINIS.: N COCC. tipo 1; N COCC. tipo 2; N COCC. tipo 3; N COCC. tipo 4; N COCC. tipo 5; COCC. tipo 6						
Posizione degli ovociti nell'incubatore						
Note:						
<u>Liquida seminale</u>						
Operatore biologico a ricevere e trattare il campione:						
Luogo della raccolta:			Ora della raccolta:			
Origine degli spermatozoi: eiaculato/MESA/PESA/TESA						
Tipologia: Fresco /congelato						
Volume:			Concentrazione			
N. spermatozoi totale						
Motilità: % progressiva/%non-progressiva/%immobili						
Concentrazione cellule rotonde						
Trattamento eseguito						
Recupero finale: volume, Concentrazione, motilità						
Note						
Giorno del trasferimento embrionale intra uterino :						
Operatore biologico						
Operatore medico						
Operatore ecografista						
Ora del trasferimento						
Tipo di catetere utilizzato						
Valutazione del trasferimento						
Note						
Congelamento Ovocitario:						
N. ovociti congelati			n. del ciclo di congelamento			
Congelamento embrionale:						
N. embrioni congelati			n. del ciclo di congelamento			
Esito del trattamento :						

ID Coppia:

Data:

Lei: Cognome/Nome/Data di Nascita/Anni/Numero di telefono
 Lui: Cognome/Nome/Data di Nascita/Anni/Numero di telefono

N. ovociti da utilizzare come richiesta da coppia e valutato da medico:
 N. massimo embrioni da trasferire:

FIV n.:

Op: ialuronidasi:

N. Ov. MII:

N. Ov. MI: :

N. Ov. Pi:

N. Ov. Atretici:

ICSI n.:

N.	G0			GI: PN check			GII: embryo check			GIII			GIV			GV			GVI										
	Ora	Op	Ter	Ora	Op	Ter	Ora	Op	Ter	Ora	Op	Ter	Ora	Op	Ter	Ora	Op	Ter	Ora	Op	Ter								
	Descrizione morfologica			N. PN	Score		N.	=	M	%F	E	Dest.	N.	=	M	%F	E	Dest.	Morfo	E	Dest.	Morfo	E	Dest.	Morfo	E	Dest.		
	F.M. S(pos.)No						C	#	N		sc.		C	#	N		sc.			sc.			sc.			sc.			
1																													
2																													
3																													
4																													
5																													
6																													
7																													
8																													
9																													
10																													
.																													
.																													
.																													
.																													
Inc																													
NB																													

Spz: Conc e mot sol. di fecondazione :

G0: F.M.: Fuso Meiotico; pos.:posizione del fuso meiotico
 GI-III: N.C.: Numero delle cellule; =#: cellule uguale o disuguali; MN: numero di cellule multi nucleati; %F: percentuale di frammenti
 GI-VI: E sc.: Embryo scoring; Dest.:Destino dell'Embrione; T per trasferito in utero, C per congelato, A per arresto
 G0-GVI: Ter: Terreno di coltura
 GV-VI: Morfo: Descrizione morfologica dell'embrione

NOTE:.....