

PRILOGA 1
PROGRAM SPECIALIZACIJE IZ MEDICINSKE EMBRIOLOGIJE

1. Teoretična znanja

Način usposabljanja: samostojno izobraževanje, učne delavnice, tečaji, seminarsko delo, predavanja v okviru podiplomskega študija.

Vsebine:

1. Biologija celice
 - 1.1 Znotrajcelične strukture
Celična membrana; mikrovili; citoplazma; citoskelet; mikrotubuli; mikrofilamenti; centriol, jedro in kromosomi, mitohondriji, endoplazmatski retikulum, Golgijev aparat
 - 1.2 Presnova v celici sesalcev
Ogljikovi hidrati; maščobe in lipidi; beljakovine, encimi, citokini; presnovne poti; prosti kisikovi radikali
 - 1.3 Temeljna načela molekularne biologije
Struktura DNK in RNK; celična replikacija
 - 1.4 Mitoza in mejoza, celični cikel, kontrolne točke, signali
 - 1.5 Interakcija med celicami
Membranski receptorji: funkcija, vrsta, regulacija; signalizacija; medcelični stiki
 - 1.6 Fiziološki procesi
Transport beljakovin, ionov in veziklov; eksocitoza, endocitoza, fagocitoza
 - 1.7 Apoptoza
2. Genetika
 - 2.1 Osnovna načela genetike
Geni, genotip in fenotip; osnovni Mendlovi vzorci dedovanja; interpretacija dedovanja/družinskega drevesa/pedigreja; kromatin DNK in kromosomi; značilnosti spolnih kromosomov: strukture in specifični geni
 - 2.2 Genetski mehanizmi
Mitoza in mejoza; mejotska delitev celic; mejoza in rekombinacija; mejotske in mitotske napake; mozaicizem in kromosomske anomalije (številčne ali strukturne anomalije); epigenetika
 - 2.3 Monogenske bolezni in kromosomske nepravilnosti
Mutacije: podedovane in de novo variante (SNP, CNV, delecije in insercije)
 - 2.4 Genetski vzroki neplodnosti
Testiranje neplodnosti pri moških (najpogostejše genetske anomalije: prizadeti kromosomi ali geni); testiranje neplodnosti pri ženskah (najpogostejše genetske anomalije: prizadeti kromosomi ali geni); genetske posledice za potomce pri starejših moških ali ženskah
 - 2.5 Genetska analiza in diagnoza
Diagnostične metode: citogenetika (npr. kariotipizacija), molekularna genetika (npr. PCR, array CGH, sekvenciranje naslednje generacije (NGS): WES in WGS); tehnike za PGT-A/SR/M
3. Razvojna biologija
 - 3.1 Embrionalne matične celice
Izvor, opredelitve, značilnosti
 - 3.2 Migracija primordialnih kličnih celic
Organogeneza; diferenciacija spola
 - 3.3 Jajčnik in modo v fetalni dobi
Dejavniki, ki uravnavajo razvoj; primordialne klične celice; migracija kličnih celic; časovna lestvica (dnevi/teden)
 - 3.4 Interakcija med gametami - do prve delitve
Npr. akrosomska reakcija; dekonzenzacija kromatina; oploditev; aktivacija jajčne celice; mejoza II, tvorba pronukleusov in vretena; singamija
 - 3.5 Razvoj zarodka - od prve delitve do implantacije

- Zgodnji zarodki, morule in blastociste; presnova zarodka, razporejanje in diferenciacija celic, embrionalna os; morfokinetika, čas, regulacija; diferenciacija celic; nepravilnosti pri delitvi
- 3.6 Implantacija in postimplantacijska embriologija
Izleganje iz zone pelucide, decidualizacija, okno implantacije, apozicija, adhezija, invazija, gastrulacija
- 3.7 Zgodnja nosečnost
Proizvodnja hCG, biokemična in klinična nosečnost; implantacija, ultrazvok (gestacijske vrečke, srčni utrip), enojajčni dvojčki; zunajmaternična nosečnost; spontani splavi; dejavniki zarodka in dejavniki maternice pri implantaciji/neuspešni implantaciji
4. Reprodukcija ženske
- 4.1 Anatomija in delovanje ženskega reproduktivnega sistema
Delovanje in regulacija reproduktivnih organov (os hipotalamus - hipofiza - gonade (HHG); jajčniki in maternica); primarne in sekundarne spolne značilnosti; reproduktivni cikel pri ženskah: pred ovulacijo/menarha, menstrualni cikel, menopavza
- 4.2 Oogeneza
Regulativni dejavniki: os hipotalamus - hipofiza - gonade; endokrina regulacija (hormoni); teka celice in celice granulose; biokemija zorenja in presnova jajčne celice; jajčna celica: morfolologija, struktura, funkcija
- 4.3 Funkcionalnost jajčne celice
Jedrna in citoplazemska zrelost; polarna telesca; zona pelucida; kumulusne celice; dimorfizmi
- 4.4 Klinični pregled
Ocena (ne)plodnosti: etiologija, medicinski/fizični vidiki, genetska diagnoza, hormonska ocena (vključno z dnevi ciklusa za testiranje), rezerva jajčnikov, možnosti zdravljenja itd.; definicije, primarna neplodnost, sekundarna neplodnost; darovanje jajčnih celic in zarodkov (izbira in pregled); serološki pregled pacientov in darovalcev
- 4.5 Stimulacija jajčnikov
Osnovna načela (uporaba agonistov in antagonistov); spodbujanje ovulacije; hiperstimulacija jajčnikov; stimulacijski protokoli v svežih ali krio cikli (vrste, indikacije: umetni in naravni cikli); zapleti zdravljenja (npr. OHSS)
5. Reprodukcija moškega
- 5.1 Anatomija in delovanje moškega reproduktivnega sistema
Primarne in sekundarne spolne značilnosti moškega; delovanje pred in po puberteti; regulacija reproduktivnih organov; vloga pomožnih žlez
- 5.2 Spermatogeneza
Regulativni hormonski dejavniki: os hipotalamus - hipofiza - gonade; para- in endokrina regulacija; Leydigove in Sertolijeve celice; diferenciacija, zorenje, biokemija in presnova spermijev; morfolologija/struktura spermijev; pregrada kri-modo
- 5.3 Diagnostika moške neplodnosti
Analiza semena (osnovna in funkcionalna); diagnostika azoospermije: obstruktivna in neobstruktivna (priprava in postopki); globozoospermija in druge genetsko povezane diagnoze; sistemi CASA; dodatni diagnostični testi (ocena poškodb DNK, kondenzacija kromatina itd.)
- 5.4 Klinični pregled
Ocena (ne)plodnosti: etiologija, medicinski vidiki, genetska diagnoza, hormonska ocena, fizični vidiki, možnosti zdravljenja itd.; definicije, primarna/sekundarna neplodnost; darovanje sperme (izbira in pregled); serološki pregledi pacientov in darovalcev
6. Laboratorijski postopki OBMP
- 6.1 Strategije za izbiro postopkov oploditve
IUI, IVF ali ICSI, merila; PESA, TESA, TESE
- 6.2 Vzorec semena: metode priprave
Centrifugiranje skozi viskozni gradient, "swim-up", mikrofluidika itd.; kdaj uporabiti kaj, zakaj, razlike
- 6.3 Tehnike OBMP
Praktični postopki za IUI, IVF in ICSI (časovna okna, postopki priprave ciklusa, potrošni material itd.); odvzem, ravnanje z jajčnimi celicami; osemenitev jajčnih celic s klasičnim IVF postopkom; denudacija jajčnih celic; ICSI; odpravljanje težav pri postopkih OBMP
- 6.4 Pogoji za gojenje
Sestava gojišč; zahteve posameznih stadijev; vrste gojišč in inkubatorjev; zahteve glede kakovosti potrošnega materiala (oznaka CE, diagnostični pripomočki in vitro v primerjavi z

- medicinskimi pripomočki in vitro); kontrola kakovosti (testi toksičnosti za zarodke, endotoksični test); metode sterilizacije; fizikalno-kemijski parametri (temperatura, pH, osmolalnost)
- 6.5 Ocene od jajčne celice do blastociste in prenos zarodka
Jajčna celica; zigota; zgodnji zarodki; morula; blastocista; morfološka merila za posamezne stadije; morfokinetika; atipične oblike razvoja zarodka, opažene s tehnologijo presledkovnega slikanja (time-lapse); merila za izbiro zarodka za prenos, krioprezervacijo, biopsijo; preverjanje identitete pred prenosom zarodka; postopek polnjenja katetra in prenosa zarodka v maternico
- 6.6 PGT (PGT-A, PGT-SR, PGT-M)
Čas biopsije; različne tehnike biopsije in priprave preparata; število celic za diagnostiko; testi za genetsko analizo odvzetih celic; razlaga rezultatov in priporočila za prenos zarodkov po PGT; kontrola kakovosti za PGT (tveganje kontaminacije)
- 6.7 Poznavanje dodatnih tehnik in nerutinskih metod
npr. zorenje in vitro; IMSI, PICSI; asistirano izleganje; umetna aktivacija jajčnih celic/spermijev
- 6.8 Darovanje jajčnih celic/semena/zarodkov
Izbira darovalca, testiranje in ravnanje z vzorci darovalca
7. Krioprezervacija
- 7.1 Principi krioprezervacije
Osnove kriobiologije; krioprotektanti; počasno zamrzovanje; vitifikacija; liofilizacija (sušenje z zamrzovanjem); prednosti/slabosti različnih metod
- 7.2 Krioprezervacija spolnih celic, zigot in zarodkov
Teorija in praksa
- 7.3 Krioprezervacija tkiva jajčnika in moda (pred in po puberteti)
Teorija in praksa
- 7.4 Oprema
Petrošni material in naprave; odprti in zaprti sistemi; tveganja kontaminacije; shranjevanje (tekoča in parna faza); varnostne zahteve (osebna zaščitna oprema, alarmi za kisik/dušik)
- 7.5 Ciklusi s prenosom odmrznjenih zarodkov
Spremljanje ciklusa in časovna okna; prenos v nadzorovanih in naravnih cikli; ocena preživetja; teorija in praksa
- 7.6 Ohranjanje plodnosti (pred in po puberteti)
Teorija in praksa
8. Obvladovanje laboratorija in kontrola kakovosti
- 8.1 Podatki o pacientih
Preverjanje identitete; zaupnost; vodenje evidenc; sledljivost; varnost, upravljanje, shranjevanje in varstvo podatkov; enotna evropska koda
- 8.2 Zagotavljanje kakovosti
Postopki identifikacije; standardni operativni postopki (SOP); sledljivost (npr. vzorec, material, izvajalec, oprema, čas); postopki validacije; kontrola kakovosti in obvladovanje tveganj; ocena ključnih kazalcev kakovosti (KPI) (klinični in laboratorijski); dnevnik izvajalcev; usposabljanje in ocena usposobljenosti; uvajanje novih metod
- 8.3 Kakovost opreme in prostorov
Kvalifikacija, validacija, umerjanje, spremljanje; evidence (dnevnik za opremo, podatke in material); vzdrževanje in nadzor; principi delovanja mikroskopov; tehnične zahteve v laboratoriju za OBMP (prostori, kakovost zraka in zračni tlak, laboratorijska higiena); dekontaminacija opreme
- 8.4 Statistična analiza
Ocena velikosti vzorca; zasnova študije (RCT, meta-analiza, prospektivna in retrospektivna študija); opisna statistika; statistična varianca; razlaga rezultatov (statistična pomembnost)
- 8.5 Zmanjševanje tveganj, odpravljanje težav in biovigilanca
Obdelava in shranjevanje kontaminiranih vzorcev pri pacientih z virusno okužbo ali boleznijo; osebna varovalna oprema (OVO); higiena in razkužila, ki se uporabljajo v laboratoriju za OBMP; zaščitni ukrepi (alarm, senzorji itd.); ukrepi ob poškodbi; tveganje zamenjave spolnih celic, izgube ali poškodbe med obdelovanjem; prenos napačnih zarodkov; okvara opreme, rezervni načrti za ugotavljanje in obvladovanje resnih neželenih dogodkov in reakcij (v skladu z direktivo EU o tkivih in celicah)
- 8.6 Rezultati zdravljenja
Zdravje otrok; dejavniki tveganja; maternalni dejavniki; paternalni dejavniki; večplodne nosečnosti; genetski dejavniki; malformacije; imprinting
- 8.7 Smernice in zakonodaja

Smernice ESHRE®; standardi ISO; evropski predpisi, povezani z OBMP; direktive Evropske unije o tkivih in celicah (EUTCD); čezmejna obravnava in prevoz človeškega biološkega materiala; distribucija; izvoz/uvoz

2. Program praktičnega dela

2.1. Osnovni del

I. Osnovna načela aseptičnega dela v OBMP laboratoriju

Cilji: Kandidat se seznani z osnovnimi laboratorijskimi pravili in je praktično vključen v vse postopke za:

1. Vzdrževanje laboratorijskih higienskih standardov
 - Omejen pristop na pooblaščen osebje
 - Čist dostop za osebje in material
 - Oblačila, obuvala, zaščitni dodatki: rokavice, maske, kape, očala/obrazni vizir
 - Umivanje in razkuževanje rok
 - Rokovanje z dezinfekcijskimi in čistilnimi sredstvi
 - Čiščenje laboratorijskih tal, sten in površin
 - Tipi sterilizacije
 - Mikrobiološka preiskava laboratorijskih pogojev
 - Kakovost zraka - vzdrževanje in meritve, nadtlak
2. Laboratorijska varnost
 - Ravnanje s potencialno kužnimi vzorci
 - Ravnanje in odstranjevanje škodljivih kemikalij
 - Ravnanje in odstranjevanje ostrih instrumentov
 - Odstranjevanje medicinskih odpadkov
 - Protipožarni ukrepi
 - Ravnanje s tekočim dušikom
 - Samostojno delo
 - Sistem za poročanje in obveščanje o incidentih
3. Odpravljanje težav pri osnovnih načelih

II. Laboratorijska oprema in delovanje

Cilji: Kandidat spozna tehnične značilnosti nepogrešljive opreme OBMP laboratorija. Kandidat se usposobi pravočasno odkriti njihove okvare. Poleg obvezne dokumentacije o delovanju opreme in navodil za njeno vzdrževanje se usposobi pripraviti tudi obvezno dokumentacijo, potrebno za sledljivost v laboratoriju (oprema, potrošni material, spolne celice/zarodki, osebje) in navodila za optimalne pogoje med zbiranjem in transportom reproduktivnih celic in tkiv v laboratorij. Aktivnosti vključujejo podrobno znanje in prakso na naslednjih področjih:

1. Nepogrešljiva funkcija laboratorijske opreme, delovanje, validacija, verifikacija, kalibracija in sledljivost, vzdrževanje nepogrešljive laboratorijske opreme:
 - Inkubatorji
 - Brezprašne komore
 - Mikroskopi
 - Mikromanipulatorji
 - Centrifuge
 - Grelne plošče in grelni bloki
 - Pipetorji
 - Farmacevtski hladilnik/zamrzovalnik
 - Oprema za krioprezervacijo
 - Merilne naprave: termometri, CO₂ merilci, O₂ merilci, pH metri, VOC metri.
 - Kontrola ključnih fizikalno - kemijskih parametrov, alarmiranje, vodenje evidenc opreme
2. Delovanje dodatne laboratorijske opreme, validacija, kalibracija in sledljivost, vzdrževanje (potrebno le, če je ta oprema v uporabi):
 - Laser
 - »Time-lapse«
 - Oprema genetskega laboratorija
 - Avtoklav, sterilizator

3. Laboratorijski pripomočki za enkratno uporabo:
 - Uporaba ustreznih vrst petrijevk, igel, pipet, katetrov, preverjanje certifikatov, skladiščenje, vstop v laboratorij (sterilnost) in zagotavljanje sledljivosti
4. Laboratorijska/pacientova dokumentacija
 - a. Organizacijski in delovni diagrami
 - b. Priprava in posodabljanje SOPov, priročnikov, laboratorijskih obrazcev, soglasij
 - c. Izpolnjevanje in popravki obrazcev, sledljivost
 - č. Vzpostavitev in izpolnjevanje baze podatkov, vodenje evidenc
 - d. Shranjevanje in zaščita podatkov o pacientih
5. Priprava laboratorija za delo
 - a. Načrtovanje meritev / čiščenj / testiranje (redno dnevno, tedensko, mesečno, kontinuirano)
 - b. Dezinfekcija laboratorija in vklop grelnih naprav in zaščitnih komor/laminarijev
6. Gojišča in pufri, olja, dodatki:
 - a. Poznavanje tipov, formulacij, preverjanje parametrov kontrole kakovosti na certifikatih, zagotavljanje sledljivosti
 - b. Zagotavljanje varnega transporta in skladiščenja
 - c. Izbira gojišča in priprava – način izbire
 - č. Predinkubacija in ravnanje z različnimi gojišči
 - d. Merjenje pH in temperature gojišča
 - e. Mikrobiološko testiranje okolja, v katerem se procesira ali goji biološki material
7. Zagotavljanje optimalnega pridobivanja bioloških vzorcev in prenosa v laboratorij
 - a. Časovna sinhronizacija z laboratorijem
 - b. Dokumentirano predhodno testiranje na virusno ali drugo kontaminacijo
 - c. Zagotavljanje stalnih pogojev pridobivanja, preprečevanje kontaminacije in negativnega vpliva sprememb okolja (temperatura, pH, osmolalnost)
 - č. Priprava pripadajoče dokumentacije, identifikacija pacienta in biološkega materiala, označevanje, kodiranje
 - d. Shranjevanje in transport v laboratorij
8. Odpravljanje težav pri postavitvi, opremi in delovanju laboratorija

III. Pregled semena

Cilji: Kandidat se usposobi za individualno opravljanje vseh standardnih in dodatnih testov na vzorcih semena z najvišjo stopnjo natančnosti in točnosti.

1. Osnovni pregled semena
 - a. Začetni makroskopski pregled
 - Volumen
 - pH
 - Utekočinjenje in viskoznost
 - Videz in barva
 - b. Začetni mikroskopski pregled
 - Postopek štetja
 - Gibljivost semenčic
 - Vitalnost semenčic
 - Koncentracija semenčic
 - Pregled vzorcev z nizko koncentracijo semenčic
 - c. Metode barvanja za citološki pregled
 - Morfologija semenčic
 - Klasifikacija semenčic po morfologiji (indeks teratozoospermije - TZI)
 - Število levkocitov (obarvanje s peroksidazo)
2. Laboratorijski izvidi
 - a. Referenčne vrednosti in določitev kakovosti semena
3. Vodenje kontrole kakovosti (povezano s pregledom semena)
 - a. Zagotavljanje natančnosti, točnosti, občutljivosti in specifičnosti
 - b. Prepoznavanje razlogov za napake
 - c. Notranje zagotavljanje kakovosti (analiza variabilnosti rezultatov testiranja)
 - č. Zunanja ocena kakovosti v andrologiji
4. Odpravljanje težav pri pregledu semena

IV. Obdelava semena za postopke OBMP

Cilji: Kandidat se nauči izbrati in izvesti najprimernejši postopek izolacije semenčic glede na značilnosti vzorca in omogočiti postopke ART tudi pri najhujših oblikah moške neplodnosti.

1. Priprava semena za IUI in OBMP
 - a. Spiranje semenčic, swim-up, centrifugiranje skozi viskozni gradient - izbira metode glede na kakovost in značilnosti vzorca
 - b. Priprava semena iz:
 - i. vzorcev s kriptozoospermijo
 - ii. virusno pozitivnih pacientov
 - iii. vzorcev retrogradne ejakulacije
 - iv. vzorcev, kjer so vse semenčice negibljive
 - v. zamrznjenih/odmrznjenih vzorcev semena
2. Priprava semenčic iz kirurško pridobljenega vzorca moda, obmodka
 - a. Priprava aspirata ali biopsiranega tkiva moda za:
 - i. citološki / histološki pregled
 - b. Identifikacija semenčic, spermatid, Sertolijevih celic v nativnem vzorcu
 - c. Priprava svežih in zamrznjenih/odmrznjenih vzorcev moda/ obmodka (mehanska, encimska metoda)
3. Odpravljanje težav pri obdelavi semena

V. Obdelava jajčnih celic za OBMP

Cilji: Kandidat se usposobi za identifikacijo jajčnih celic in njihovo varno pripravo za postopke OBMP.

1. Pregled folikularne tekočine
 - a. Razlikovanje med vsebino folikla, ciste, endometriozne ciste, granuloznih celic in celic kumulusa,
 - b. Identifikacija in izolacija kompleksov kumulus-jajčna celica (KKJC)
2. Ocena morfologije KKJC
 - a. Normalni / luteinizirani/ nezreli KKJC
3. Gojenje KKJC ob upoštevanju optimalnega časa
 - a. Potreben čas inkubacije KKJC (po sprožitvi ovulacije in identifikaciji jajčnih celic v folikularnih aspiratih) pred nadaljnjo obdelavo
4. Obdelava KKJC
 - a. Encimska in mehanska denudacija
 - b. Možne poškodbe
5. Ocena morfologije in zrelosti jajčnih celic
 - a. Zrelost jedra
 - b. Ocena citoplazme in ostalih struktur jajčne celice (zona pelucida, perivitelinski prostor, polarno telo, drugi dismorfizmi)

VI. Oploditev jajčnih celic

Cilji: Kandidat se usposobi za izbiro in izvedbo takšne metode osemenitve, ki bo zagotavljala najvišjo stopnjo oploditve, pri neplodnosti z nemoškim faktorjem neplodnosti pa bo dala prednost uporabi klasičnega IVF postopka. Usposabljanje vključuje:

1. Strokovna razprava s sodelavci o primernosti pacientov za uporabo klasične metode (klasični IVF) kot metode osemenitve:
 - a. Moški: normo-, asteno-, teratozoospermija, sveže/zamrznjene seme, virusna/bakterijska kontaminacija
 - b. Ženska: starost, odziv na hormonsko spodbujanje jajčnikov, sveže/zamrznjene jajčne celice
 - c. Par: stopnja oploditve v prejšnjih postopkih OBMP, postopkih PGT
2. Klasični IVF
 - a. Priprava za osemenitve v vdolbinici ali v kapljici
 - b. Zagotavljanje pravilne koncentracije semenčic, časa in trajanja ko-inkubacije

VII. ICSI

Cilji: Kandidat se usposobi za zagotavljanje najvišje stopnje oploditve pri različnih vrstah moške neplodnosti. Usposabljanje vključuje:

1. Postopek neposrednega vnosa semenčice v citoplazmo jajčne celice (ICSI).
 - a. Priprava ICSI posodice in spolnih celic
 - b. Metode identifikacije in izolacije optimalnih semenčic
 - c. Izvedba ICSI z imobilizacijo in injiciranjem semenčic
 - č. ICSI s semenčico iz obmodka /moda
 - d. ICSI pri pacientih s kriptozoospermijo
 - e. ICSI pri pacientih, ki imajo vse semenčice negibljive ali Kartagenerjev sindromom
 - f. ICSI pri pacientih z globozoospermijo

- g. Odpravljanje težav pri mikromanipulaciji
- 2. Odpravljanje težav pri osemenitvi jajčnih celic

VIII. Gojenje zarodkov, ocena oploditve in razvoja zarodkov

Cilji: Kandidat se usposobi za vzdrževanje varnih pogojev gojenja zarodkov, ocenjevanje njihove morfokinetične značilnosti, ki napovedujejo ugnezditev, in razvrščanje zarodkov glede na njihov razvojni potencial. Usposabljanje vključuje naslednja področja:

- 1. Ocena oploditve
 - a. Odstranitev preostalih kumulusnih celic iz jajčnih celic, osemenjenih s klasičnim IVF postopkom
 - b. Razlikovanje med normalno, nenormalno oploditvijo (triploidija, mikronukleusi, partenogeneza) in neuspešno oploditvijo
 - c. Prepoznavanje možnih vzrokov za neuspešno oploditev
 - č. Odkrivanje kontaminacije z mikroorganizmi
 - d. Obveščanje pacientov o rezultatih oploditve, vključno s 100% neuspešno oploditvijo
- 2. Ocena razvoja zarodka
 - a. Standardna ocena morfologije zarodka v prvih fazah delitve
 - b. Standardna ocena morfologije zarodka v fazi morule
 - c. Standardna ocena morfologije zarodka v fazi blastociste
 - č. Prepoznavanje nepravilnosti pri razvoju zarodka z uporabo svetlobne mikroskopije: asimetrija blastomer, večjedenost, fragmentacije
 - d. Anotacija morfokinetičnih parametrov zarodka s časovnim zamikom
 - e. Prepoznavanje nepravilnosti pri delitvi zarodkov z uporabo fotografije s časovnim zamikom (time-lapse)
 - f. Napovedovanje razvojnega potenciala in sposobnosti preživetja zarodka ter njihovo razvrščanje glede na napovedne dejavnike
 - g. Razlikovanje živih zarodkov za prenos ali kriokonzervacijo od neživih zarodkov
- 3. Upravljanje kakovosti
 - a. Notranja kontrola kakovosti (IQC) v embriologiji
 - b. Zunanja kontrola kakovosti (EQA) v embriologiji

IX. Prenos zarodov (ET)

Cilji: Kandidat se usposobi za izbiro in pripravo najboljših zarodkov za prenos zarodkov glede na njihovo morfologijo in morfokinetične značilnosti. Usposabljanje vključuje naslednji področji:

- 1. Prenos zarodkov
 - a. Izбира zarodkov za ET
 - b. Priporočila ginekologom o optimalnem dnevu ET in številu zarodkov za ET
 - c. Komunikacija s pacientom
 - č. Priprava in polnjenje katetra in preverjanje katetra po prenosu
 - d. Odpravljanje težav
- 2. Odpravljanje težav pri gojenju zarodkov in ET

X. Krioprezervacija

Cilji: S poznavanjem osnovnih principov kriobiologije se kandidat usposobi za izvajanje naslednjih postopkov in za omogočanje največjega možnega preživetja zamrznjenih in odmrznjenih reproduktivnih celic in zarodkov:

- 1. Krioprezervacija in odmrzovanje semena
 - a. Krioprezervacija virusno kontaminiranega semena
- 2. Krioprezervacija in odmrzovanje tkiva moda
 - a. Krioprezervacija TESE in mikro-TESE
 - b. Ocenjevanje vitalnosti semenčic iz mod
- 3. Vitifikacija in ogrevanje jajčnih celic
 - a. Ocena preživetja jajčnih celic
- 4. Krioprezervacija zarodka / blastociste / odmrzovanje, vitifikacija / ogrevanje
 - a. Ocena preživetja zarodka / blastociste
- 5. Odpravljanje težav pri krioprezervaciji

2.2. Nadaljevalni del

Specializant nadaljuje vse dejavnosti iz osnovnega programa usposabljanja na področju klinične embriologije in prikaže dejavnosti usposabljanja z vpisovanjem postopkov v dnevnik učnega procesa. Nadaljevalni program usposabljanja zajema naslednja (dodatna) področja:

XI. Shranjevanje celic, tkiv in zarodkov

Cilji: Specializant se usposobi za upravljanje vseh vrst kriobank za reproduktivne celice, tkiva in zarodke. Te spretnosti vključujejo naslednja področja:

1. Zamrzovanje in odmrzovanje tkiva mod
 - a. Zamrzovanje TESE in mikro-TESE
 - b. Ocenjevanje vitalnosti semenčic
2. Zamrzovanje in odmrzovanje tkiva jajčnikov (neobvezno)
 - a. Ocenjevanje vitalnosti foliklov
3. Dejavnosti v kriobanki reproduktivnih celic, tkiv in zarodkov
 - a. Vzdrževanje varnostnih ukrepov za biološki material in osebje
 - b. Sledljivost shranjenega materiala v kontejnerjih
 - c. Vodenje podatkov in dokumentacije
 - č. Organizacija karantene in shranjevanje kontaminiranih vzorcev
 - d. Vzdrževanje stikov z pacienti v zvezi z njihovim shranjenim biološkim materialom
 - e. Končanje hranjenja biološkega materiala po končani dobi hrambe ali na zahtevo pacientov
 - f. Uvoz/izvoz in označevanje zamrznjenega biološkega materiala
 - g. Priprava zamrznjenega materiala za prevoz
 - h. Priprava zamrznjenega materiala za distribucijo
 - i. Ocenjevanje in izbira vzorcev darovalcev za prejemnike

XII. In vitro maturacija (IVM) spolnih celic in tkiv (neobvezno)

Cilji: Ta modul je obvezen le, če izvajalec zdravstvene dejavnosti, pri katerem specializant opravlja učni proces, dejansko redno izvaja to tehniko. Specializant se usposobi za izvajanje IVM nezrelih jajčnih celic in semenčic ter oceniti stopnjo zorenja. Te spretnosti naj pridobi z dejavnostmi:

1. IVM kompleksov kumulus-jajčna celica (KKJC)
 - a. IVM nezrelih jajčnih celic po aplikaciji hCG
 - b. Priprava gojišč za IVM s hormonskimi dodatki
 - c. Izolacija nezrelih kompleksov kumulus-jajčna celica z uporabo celičnega sita
 - č. Ocenjevanje zrelosti jajčnih celic
2. IVM suspenzije celic iz moda
3. Ocenjevanje zrelosti spermijev

XIII. Mikromanipulacija na zarodkih (biopsija) in genetska analiza (neobvezno)

Cilji: Ta modul je obvezen le, če izvajalec zdravstvene dejavnosti, pri katerem specializant opravlja učni proces, dejansko redno izvaja to tehniko. Specializant se usposobi za izvajanje najbolj občutljivih tehnik mikromanipulacije na zarodkih, da jih pripravi za nadaljnjo vitrifikacijo ali za odvzem biološkega materiala za genetsko testiranje:

1. Izvajanje biopsije
 - a. Polarno telo, blastomere in/ali celice trofektoderma
2. Priprava odvzetih celic za kromosomsko in gensko analizo
 - a. Fiksacija in/ali "tubing" za PGT-M (monogenske okvare) in/ali za PGT-SR (kromosomske strukturne spremembe) in/ali PGT-A (aneuploidije)
3. Razumevanje izvidov o genetski analizi

XIV. Postavitev laboratorija

Cilji: Specializant se usposobi za samostojno vzpostavitev novega laboratorija ali kriobanke. Dejavnosti vključujejo podrobno teoretično znanje in prakso na področjih:

1. Vzpostavitev laboratorija za OBMP
 - a. Lokacija laboratorija, gradnja, načrtovanje

- b. Infrastruktura laboratorija: filter za preoblačenje, laboratorijski prostor, stene, stropi in tla, pohištvo, barve, električni priključki, UPS, oskrba s plinom, senzorji O₂/ CO₂, nadzor vstopa in varovanje
 - c. Zrak v laboratoriju: izmenjava in filtriranje zraka, nadzor temperature in vlaženje, nadzor delcev, nadzor hlapnih organskih spojin
- 2. Vzpostavitev androloškega laboratorija
 - a. Lokacija laboratorija, zasnova
 - b. Infrastruktura laboratorija
- 3. Vzpostavitev kriobanke
 - a. Lokacija in zasnova prostora za kriobanko,
 - b. Infrastruktura: prostor, tla, električne povezave, oskrba z LN₂, senzorji O₂/ CO₂ in izmenjevalniki zraka, nadzor vstopa in varnost
 - c. Kontejnerji, alarmni sistem in varnostni postopki

XV. Priprava laboratorijskih rezultatov in svetovanje

Cilji: Specializant se usposobi oblikovati laboratorijski izvid in ga interpretirati v posvetovanju z drugimi strokovnjaki.

- 1. Izvidi
 - a. Priprava izvida o rezultatih testiranja, obdelave, shranjevanja ali distribucije reproduktivnih tkiv, spolnih celic in zarodkov, vključno z referenčnimi vrednostmi, kadar je to mogoče
 - b. Razlaga in sporočanje laboratorijskih izvidov drugim strokovnjakom
 - c. Razumevanje izvidov hormonskih, seroloških in mikrobioloških laboratorijev
- 2. Komunikacija
 - a. Predlaganje najprimernejših laboratorijskih testov ali postopkov OBM.
 - b. Komunikacija s pacienti in dajanje informacij o kakovosti in funkcionalnosti njihovega biološkega materiala in primernosti za klinično uporabo
 - c. Napovedovanje uspešnosti zdravljenja z OBMP glede na kakovost biološkega materiala (spolnih celic, zarodkov) in značilnosti pacienta
 - č. Komuniciranje s presojevalci med nadzorom dela laboratorija

XVI. Obvladovanje laboratorija za OBMP in kriobanke

Cilji: Specializant se usposobi za vodenje laboratorija in kriobanke v skladu z najvišjimi standardi kvalitete dela na navedenih področjih:

- 1. Organizacija dela, razdelitev nalog, spremljanje izvajanja nalog
- 2. Razumevanje in delo v skladu s standardi, smernicami
 - a. Mednarodni standardi: ISO 9001 (lahko tudi ISO 15189, GMP, GLP)
 - b. Dobra praksa v laboratorijih za OBMP
 - c. Laboratorijski priročnik SZO za preiskavo in obdelavo človeškega semena (zadnja izdaja)
- 3. Kontrola kakovosti
 - a. Dokumenti kakovosti
 - b. Kadrovska administracija
 - c. Dokumentiranje in validacija metod
 - č. Kontrola kakovosti opreme, spremljanje parametrov (temperatura, plini, vlažnost), validacija, servis
 - d. Ocenjevanje dobaviteljev potrošnega materiala, kitov in gojišč ter njihove kakovosti
 - e. Nadzor laboratorijskega okolja (temperatura, nadtlak, delci, mikrobiološki testi)
 - f. Zapisi o kontroli kakovosti pri presojah
 - g. Neskladnosti in izboljšave
- 4. Zagotavljanje kakovosti
 - a. Laboratorijski informacijski sistem (Excel ali posebna laboratorijska programska oprema)
 - b. Opredelitev pomembnih parametrov (spremenljivk): karakteristike pacienta, anamneza, indikacije za zdravljenje neplodnosti, serološko testiranje, značilnosti cikla IUI/IVF/odmrzovanje zarodkov (hormonska terapija, odziv jajčnikov, pridobivanje reproduktivnih celic, značilnosti reproduktivnih celic, laboratorijski postopki, sodelujoče osebe, uporabljen material, shranjevanje), laboratorijski rezultati (rezultati priprave semenskega izliva, zrelost reproduktivnih celic, oploditev, razvoj in kakovost zarodka, uporabnost zarodkov, preživetje po zamrzovanju in odmrzovanju, ocena in število prenesenih ali zamrznjenih zarodkov), izid prenosa (biokemična nosečnost, implantacija, večplodna nosečnost, klinična nosečnost, spontani splavi, živorojeni otroci, enojčki, dvojčki, trojčki), izid poroda
 - c. Nadzor podatkovne zbirke: popolnost zbranih podatkov, shranjevanje podatkov v združljivi obliki na varnem mestu

- č. Opredelitev referenčnih skupin pacientov: mladi, starejši pacienti, slabo odzivni pacienti, skupina IUI, skupina IVF, skupina ICSI
 - d. Opredelitev ključnih kazalnikov uspešnosti (KPI): stopnja oploditve, stopnja zrelosti jajčnih celic, delež propadlih jajčnih celic, delež postopkov z neuspešno oploditvijo, delež zgodnjih zarodkov, delež optimalnih zarodkov, delež blastocist, stopnja preživetja po odmrznitvi, stopnja nosečnosti, stopnja implantacija, stopnja klinične nosečnosti, stopnja večplodne nosečnosti, delež splavov, delež porodov
 - e. Opredelitev referenčnih vrednosti, vključno z ustreznimi referenčnimi vrednostmi najnižje/najvišje sprejemljive ravni za vsak KPI
 - f. Spremljanje uspešnosti postopkov OBMP, vodenje statističnih evidenc o uspešnosti posameznikov in celotnega laboratorija s primerjavo vrednosti KPI
 - g. Zunanja kontrola kakovosti
5. Obvladovanje tveganja: Kaj gre lahko narobe?
- a. Prepoznavanje velikih tveganj: neželeni dogodki/reakcije, hudi neželeni dogodki/reakcije, napake, skorajšnji incidenti, odstopanja / neskladnosti, opozorilni dogodki, pritožbe.
 - b. Neželeni dogodki: postopki, kako preprečiti, kako ravnati, poročanje; npr. izguba ali poškodba spolnih celic/zarodkov med laboratorijsko obdelavo, prenos napačnega zarodka, nepravilno delovanje opreme/materiala
 - c. Neželene reakcije: postopki, kako preprečiti, kako ravnati, poročanje; npr. ugotovljene malformacije otrok po uporabi darovanih spolnih celic.
 - č. Vrednotenje tveganj in izdelava ocen tveganja po metodi FMEA (failure mode and effects analysis). Učinkovitost preventivnih ukrepov, korektivnih ukrepov
6. Nenehno izboljševanje kakovosti
7. Upravljanje registrov (o pacientih, ciklih, darovalcih, celicah in tkivih, kriobanki) in redno poročanje podatkov v nacionalne/mednarodne registre

XVII. Raziskave, statistika in presoje

Cilji: Specializant spozna:

1. Načrtovanje raziskav
 - a. Razumevanje različnih vrst raziskav (opazovalne, eksperimentalne; opisne, analitične; kontrolirane, nekontrolirane; kohortne študije, študije primera in kontrole; prospektivne, retrospektivne; randomizirane, nerandomizirane; presečne, longitudinalne; pilotne študije...)
 - b. Razumevanje randomiziranih kontroliranih raziskav in metod meta-analize
 - c. Razlikovanje med laboratorijskimi metodami OBMP, katerih prednosti so dokazane z rezultati raziskav podprtih z dokazi (evidence-based, non-evidence-based)
2. Pridobivanje, shranjevanje, interpretacija in statistična analiza podatkov
 - a. Razumevanje parametrov populacije in tehnik vzorčenja
 - b. Izračunavanje srednjih vrednosti in variacij
 - c. Analiziranje objavljenih raziskav in oblikovanje raziskovalne hipoteze:
 - i. raziskovalno vprašanje
 - ii. ničelna hipoteza
 - iii. tehnika vzorčenja (vključno z oceno napake pri vzorčenju in izračunom potrebne velikosti vzorca)
 - iv. izražanje in korelacija neobdelanih podatkov in preproste (npr. log) transformacije
 - v. izbira in uporaba ustreznih statističnih testov
 - vi. statistična značilnost rezultatov
 - vii. zaključki
 - viii. s statistično analizo pridobljeni sklepi
 - č. Uporaba naslednjih statističnih testov
 - i. parametrični testi
 - ii. neparametrični testi
 - iii. korelacije in regresije
 - iv. analiza več spremenljivk
 - d. Opredelitev izrazov "statistično značilno", "interval zaupanja", "napaka tipa I" in "napaka tipa II"
 - e. Izvajanje statistične analize podatkov iz eksperimentov in vrednotenje uspešnosti OBMP (kontrola kakovosti)
 - f. Razumevanje pomena razprave in sodelovanja s statističnimi svetovalci
 - g. Razumevanje vloge registrov
 - h. Razumevanje izračuna kumulativnih stopenj in ocene pristranskosti

3. Pisanje znanstvenega članka in predstavitvene spretnosti, vključno z oblikovanjem vlog za razpise za raziskovalne projekte
4. Izvajanje presoj medicinskih laboratorijev, podajanje povratnih informacij ter sposobnost uporabe zbranih podatkov
5. Oblikovanje, določanje obsega, izdelava in izvajanje laboratorijskih smernic

XVIII. Poučevanje

Cilji: Specializant pridobi izkušnje pri poučevanju, ki vključujejo:

1. Odgovornosti za poučevanje novega laboratorijskega osebja na svojem strokovnem področju
 - a. sodelovanje v podiplomskem programu usposabljanja embriologov pri izvajalcu zdravstvene dejavnosti
 - b. sodelovanje v dodiplomskem programu poučevanja
2. Pridobivanje izkušenj s tehnikami ocenjevanja znanja in vrednotenja kompetenc

XIX. Etični in pravni vidiki

Cilji: Specializant se usposobi razpravljati o pravnih in etičnih vidikih klinične in laboratorijske prakse. Usposobi se za pripravo vloge etični komisiji za oceno etičnosti raziskav na spolnih celicah in zarodkih, vključno z obrazcem soglasja za paciente.

Naloge specializanta:

1. Priprava letnega poročila o spolnih celicah, tkivih in zarodkih
2. Priprava letnega poročila o neželenih dogodkih ali neželenih reakcijah
3. Sodelovanje v vseh postopkih presoj in nadzorov dela laboratorijev kot presojevalec ali presojanec
4. Priprava obrazca soglasja za vključitev pacientov v raziskave: pojasnilo, primernost in prostovoljnost
5. Priprava vloge za oceno raziskave s strani etične komisije

XX. Stalno strokovno izpopolnjevanje.

Cilji: Specializanti imajo možnost vsakoletne udeležbe na ustreznih nacionalnih in po možnosti mednarodnih konferencah, ki so pomembna za njihovo področje dela ter imajo vsako leto priložnost, da izpolnijo merila za pridobitev letnega potrdila kontinuirane edukacije, ki ga izdaja ESHRE.

Naloge specializantov:

1. Sledenje strokovni literaturi, spremljanje novosti na strokovnem področju in uvajanje novih laboratorijskih metod v rutinsko prakso
2. Nenehno strokovno izpopolnjevanje sebe in preostalega laboratorijskega osebja z organiziranjem raziskovalnih dejavnosti, pisanjem znanstvenih in strokovnih člankov, sodelovanjem v e-izobraževanju, organizacijo in udeležbo na delavnicah, simpozijih, kongresih
3. Dejavnosti samorefleksije kot del stalnega strokovnega izpopolnjevanja.