

Quality Control in Human IVF Lab

바이오메드연구소

최 규 완

1. 서 론

불임의 치료수단으로 IVF가 도입된 지 20여 년이 지난 현재, 보조생식술 영역에서의 연구 및 치료 기술은 양적 질적 성장을 가져왔다. 배란유도, 수정 방법, 특히 ICSI의 등장, 배양 방법, 배우자와 수정란의 동결보존의 발달 등은 남성불임과 수정 불능을 극복하여 임신율은 30% 이상 증가되었다. 그러나, 현재에도 각 ART 센터마다 시술에 대한 방법과 기술의 차이로 인해 불임 치료의 질적 차이를 가져왔다. 따라서 ART 센터의 시술에 필요한 이론적 혹은 실질적 guide line을 설정하는 표준화 작업이 필요하고, 현 시점에서 불임학회의 연수과정을 통해 표준화 과정을 이해함은 시기적절하다 생각된다.

보조생식술은 체내 생식수관계에서 일어나는 일련의 사건의 일부를 체외에서 보조하거나 대처해 주는 시술을 가리킨다. 또한 체내와 체외의 여러 가지 상이한 점으로 인하여 배우자 및 수정란은 정도의 차이는 있지만 체내보다 stress를 받으며, 이로 인해 체외에서의 배아 발생 및 생존성은 격감되는 것으로 이해하고 있다. 즉 체내에서의 세포학적, 물리적, 생리 화학적 환경은 모든 기술을 동원한 현재의 배양기술이 만들어낸 환경과 상치하지 않고, 이의 결과로 보조생식술에 의한 성적은 자연 착상율을 따르지 못하고 있다. 따라서 최상의 배양환경을 구현하고 유지하기 위해서는 배양환경에 대한 적극적 Quality control, 정도관리를 유지하는 것이다.

따라서 본 장에서는 Human IVF Lab에서의 정도관리에 대한 범위, 적용 방법들의 소개 및 이들의 장단점과 인원에 대한 quality control 및 assurance에 대한 선진국들의 예를 들어 우리의 미래 구상하고자 한다.

2. 본 론

2-1. 정도관리의 정의

협의의 의미에서 Quality control, 정도관리는 일반적으로 IVF system에서 배양액 혹은 배양기의 배양 환경의 적절성 (optimal condition)을 판정하기 위한 mouse embryo culture를 통해 판정하는 활동 정도를 의미한다. 하지만 광의의 정도관리는 위의 대상은 물론이고, IVF에 관련된 모든 것, 즉 배란 유도 약제의 성능, 유도 방법, 배양실내의 공기의 청정 혹은 온도 등의 환경, 시술과정에 소요되는 난자 채취용 바늘, 이식용 catheter와 주사기, 배양 접시 등의 소모품 일체, 의사와 임상 생물학자의 검사의 정확도와 시술 숙련도 등에 대한 제반 사항의 적합성을 관리하는 program을 가리킨다. 따라서 철저한 정도관리는 시술 성적을 최상으로 유지하고 계절적 변이나 성적에 영향을 미치는 유해한 환경에 대한 평가와 예방에 필수적인 요인이다. 하지만

이러한 모든 사항과 과정에 대한 정도관리의 유지는 시간과 비용이 요구된다.

2-2. 정도관리의 운용 시기

불임시술 센터에서 정도관리의 횟수는 아무리 자주 한들 지나치지 않지만 인원, 시간과 비용이 소요되기 때문에 운용에 있어서 경제적인 운용이 필요하다. 정도관리의 최선의 방법은 위험한 생각이겠지만, human IVF이다. 즉 IVF cycle의 수에 따라 정도관리의 운용 체계는 달라질 수 있다. 체외수정 시술수가 월 20개 이상인 센터에서는 횟수를 줄이더라도 환경 변화를 비교적 민감하게 감시할 수 있으나, 5 cycle 미만의 소규모 센터에서는 정기적인 정도관리를 해주어야 한다. 다음은 경우에 따른 정도관리 운용 방법에 대해 기술한 내용이다.

A. 실험실 설치 초기 운용

최초 설치된 임상 시술 실험실은 여러 가지 요인에 대해 정도관리 평가를 해야 한다. 실험실이 신축 건물에 시설되었는지, 건물 구조물은 어떠한 재질로 이루어져 있는지, 건물의 공조 시설은 어떠한지, 배양실에는 양압장치가 설비되었는지, 어떠한 기기가 사용되고 있는지 등의 여러 가지 조건에 따라 정도관리 계획을 달리 세워야 한다. 신축 건물시멘트나 주차장 포도 등에서 나오는 유해 성분인 aldehydes (특히 acrolein) 등은 배아 발생을 저해하는 것으로 알려져 있다 (Hall et al., 1998). 이러한 성분 등은 입자성이 아니기 때문에 filter system에 의해 제거가 되지 않는다. 따라서 그러한 환경의 배양실에서는 초기에 배양실 온도를 높이고, 강제 배기를 2주 이상 유지하여 유해성분을 최대한 제거한 후 적극적 정도관리를 시행하여야 한다. 최초 시설된 배양실에서는 연속 4회 이상 생쥐 배아를 이용한 정도관리 시행 후 결과에 따라 운용해야 한다. 실내 공기 등의 냄새 혹은 특별한 문제점이 없는 경우에는 연속 2회의 정도관리 시행만으로도 가능하다.

B. 정상적 정도관리 운용

정상적으로 운영되는 human IVF Lab에서는 배양실 환경과 시술 결과를 매일 기술하는 것 자체가 정도관리이다. Lab check list에는 배양실의 시술 건수, 특징적 시술 및 결과, 온도 변화, 배양기의 온도 및 이산화탄소 농도, 소독 실시 여부, 외부로부터의 유기용매 유입, 배양실 이외의 장소로부터의 건물 보수 및 도색 작업의 유무 등의 변화를 빠짐없이 주 단위로 작성하고 평소와 다른 점이 발견될 시에 적극적 정도관리 확인이 필요하다. IVF 시술 숫자에 관계없이 최소한 월 2회 이상 정도관리를 유지하는 것이 필요하다.

C. 응급 운용

정도관리의 응급 운용은 IVF Lab에서의 check list 기록상에 주변의 공사로 인해 페인트 냄새가 나거나 온도 일교차가 5도 이상 나는 경우 등의 특별한 변화가 발생하는 경우 필요하다. 혹은 배양에 직접 관련되는 소모품의 제조사 혹은 제조번호가 바뀌는 경우 운용할 수 있다. 경우에 따라서는 특별한 변화가 감지되지 않더라도 배아 발달이 좋지 않거나 임신이 잘되지 않는 경우에 적극적 정도관리를 시행한다. 하지만 이러한 결과에 대처하기 위한 정도관리 보단 평소에 정확한 기록을 유지하여 어떠한 조그만 변화조차 감지하는 것이 quality를 유지하는 최상의 방법이다. 즉 Lab의 기록 이야말로 가장 훌륭한 정도관리이다.

2-3. 현재 사용되는 정도관리 방법

우선 정도관리에 사용되는 방법들은 다음과 같은 조건을 충족하고 있어야 한다. 우선 첫째

로, 정도관리 방법의 간단함 (simplicity)이다. 시행과정이 복잡하면 의외의 bias가 관여될 기회가 늘 수 있다. 둘째는 재현성 (reproducibility)이다. 시행자들 간의 변이 (inter-variation) 혹은 시행 회마다의 변이 (intra-variation)가 심하게 발생된다면 정도관리 결과의 해석에 문제가 발생할 것이다. 물론 인원 (personnel)에 대한 충분한 자질이 전제되어야겠지만 동일한 과정의 행위에 대한 결과의 재현성은 매우 중요한 요인이다. 셋째, 정도관리 방법은 판정하고자 하는 대상의 상태를 정확히 표현해 주어야 한다 (high sensitive). 마지막으로, 방법이 아무리 정확하고 sensitivity가 높더라도 시행함에 너무 큰 시간과 경비가 소요된다면 적절한 정도관리 방법이 될 수 없다. 우리는 최대한 이런 조건을 충족시키는 방법을 선택하고 개발하여야 할 것이다.

Human IVF Lab에서의 정도관리는 생쥐 배아 배양 방법이 정도관리의 통상적인 방법으로 인식되어 있다. 대체로 쉽게 이용하는 system이지만 그 외에도 다음과 같은 여러 가지 방법들 통해 시행되고 있다. 사용되는 방법으로는 i) mouse embryo culture test ii) human sperm survival test iii) hamster sperm motility test iv) hybridoma cell culture test 등이 주로 적용되고 있다. 이들 방법마다 특징적인 장점과 단점이 있기 때문에 Lab의 여건과 목적에 따라 선택 사용할 수 있다.

A. Mouse Embryo Culture System

1956년 Whitten의 체외 배아 발생에 대한 보고 이후, 체외에서의 난자 성숙, 수정 및 이후 배아 발달에 대한 연구들이 결국, 1978년 Edwards와 Steptoe에 의한 최초의 시험관아기의 탄생을 가능하게 했다. 유인원, 가축 혹은 설치류의 체외 배아 발달에 대한 연구결과 사람 수정란이 체외에서의 발달에 보다 나은 조건을 찾을 수 있는 방법으로 정도관리 방법이 적용되었고, 이의 발달은 ART program의 발전을 가져 왔다. Mouse embryo bioassay에 사용되는 방법으로는 1) Mouse IVF System 2) Mouse One Cell System 3) Mouse Two Cell System 4) Zona-free Mouse Embryo Assay 5) Mouse Frozen Embryo System 등이 사용된다. 이들 방법들은 사용하는 mouse strain 혹은 배양액의 성분에 따라 적용하는 QC 방법이 다르다. 즉 outbred white albino mice는 연구와 QC에 가장 널리 이용되는데, 이는 2-cell system에 주로 이용된다. 그러나 이는 toxicity에 대한 저항력이 강하여 본래의 목적을 수행함에 적절치 못하다는 관점도 있다. 따라서 이를 보완하기 위한 QC 방법으로 inbred strain 간의 교잡종인 F1 (C57BL female 과 CBA male 의 교잡종이 가장 많이 사용됨)을 이용 IVF system, one cell system 혹은 zona free나 동결 보존 배아를 이용하기도 한다. 이러한 system 간에는 배아의 포배에 이르는 율이 차이가 있기 때문에 QC 결과에 대한 판정기준이 서로 달라야 한다.

생쥐 배아는 여러 종류의 포유동물 배아 중에서 그들의 분열속도, compaction과 blastocoele 형성 및 포배 분화 등의 발달과정, 대사물질의 사용 등을 비교하여 비교적 사람과 유사하기 때문에 생쥐 배아가 사람의 체외수정 및 이식의 정도관리에 좋은 model로 사용되고 있다. 1997년 미국내 159개 보조생식술 Lab에서 90% 이상이 mouse embryo bioassay를 주된 정도관리 방법으로 채택하고 있으며, 그 외 human sperm motility bioassay와 hamster sperm motility bioassay 순으로 사용되고 있다. Mouse embryo bioassay 방법을 채택하는 센터의 53%는 상용화된 동결 2 cell 배아를 사용하고, 34%가 1-2 cell 신선 배아를 사용하고, 나머지 13%는 동결된 mouse zygote를 사용하고 있다.

그러나, mouse embryo bioassay 방법이 편리한 반면에 sensitivity와 specificity에 대해 반문하는 질문이 많다. 근본적으로 배양액 내의 toxicity를 가려낼 수 있는가 하는 질문과 분열, compaction, blastocoele의 형성과 같은 배아 발달 단계에 특이적 역할을 구분할 수 있는가 또는 배

아 발달에 대한 결과가 수정의 결과를 예견할 수 있는 지표가 될 수 있는가 등이다. 예컨대, tap water와 Milli-Q water로 만들어진 배양액에서 2-cell embryo 배양시 양군간의 유의한 차이를 나타내지 않는다는 보고도 있다. 따라서 이들의 sensitivity를 높이고자 zona-free 혹은 동결 수정란을 사용하기도 한다. 이들에서의 문제점은 이러한 수정란을 만드는 과정에서 발생할 수 있는 또 다른 bias이다. 따라서 human sperm survival test 등과 상호 보완적 QC가 바람직하다. 그 외에도 mouse embryo culture에서 배양 결과 자체에 미치는 영향으로 배아의 밀도 (density)와 protein supplement 및 EDTA 등의 첨가에 따른 QC 결과다. 배아는 발달과 함께 autotropic factor를 분비한다. 따라서 배양액의 volume 혹은 배아의 수에 따라 발달은 영향을 받는다. 이러한 요인들을 표준화시킬 필요가 있고, 운용하는 사람에 따른 bias (personal bias)로 인해 결과가 달라지는 것을 막는 인원관리도 매우 중요하다.

B. Human Sperm Survival Test (SST)

Human sperm survival test는 human IVF program에 사용되는 여러 가지 기구, 즉 syringe, glove, 기타 culture ware 들에 대한 toxicity를 편리하게 판정할 수 있는 정도관리 방법이다. Mouse embryo bioassay에 비해 과정이 복잡하지 않고, 비용도 저렴하며, 민감도가 높은 장점이 있다. 방법은 10% serum이 섞인 HTF에 swim-up 방법으로 활동성 정자를 분리한 후 0.5 ml씩 분주한 후 test용 기구를 5~10분 적용한 후 실온에 5% CO₂가 공급되는 chamber에 배양하며, 매 24시간 간격으로 4일간 motility를 측정하여 survival index(SI)를 계산한다. SI가 0.85 미만인 경우 toxicity가 있을 가능성이 있는 것으로 판정하며, 0.85 이상을 IVF에 적합한 것으로 판정한다.

한편, sperm survival test (SST)의 변형 방법으로 체외수정 시술의 수정 (37C in 5% CO₂ in air)에 사용한 정자의 24시간 후 운동성을 측정한 후 수정 및 수정이후 배아 발달의 예측치로 이용할 수도 있다. SI가 50% 이상일 경우를 정상, 미만을 비정상으로 평가할 경우 SST의 test 효율은 70% 이상으로 일반적인 정액검사보다 좋은 것으로 나타나, 하나의 QC 방법이 될 수 있다 (Franco et al., 1993).

C. Hamster Sperm Survival Test

Hamster sperm motility bioassay(Bavister and Andrews, 1988)는 상기 방법들에 비해 민감도, 경제성 및 시간적 절감 등에서 매우 효과적인 방법으로 배양액용 물 혹은 배양액 자체의 test에 이용되고 있다. 특히 배양액 내에 단백질 혹은 chelating agent를 첨가하지 않으므로 배양액 자체에 대한 순수한 평가 뿐 아니라 민감도를 훨씬 증가시켰다. 주된 기본 배양액은 lactate가 섞인 Tyrode solution (TL)에 단백질 대신 polyvinyl alcohol (PVA)이 섞인 TL-PVA를 사용한다. 기본배양액에 sodium pyruvate (P)를 첨가한 TLP-PVA와 대조군으로는 단백질 (A)를 추가한 TALP-PVA에서 상호 비교한다. 관찰은 정자의 크기로 인해 해부현미경의 dark field하에서 10 내지 20배로 관찰하여 motility index를 구한다.

D. Hybridoma Cell Culture Test (Hybritest)

새로운 정도관리 방법으로 간단하고 민감하며 embryo handling technique이 필요치 않은 편리한 방법이다. 사용되는 cell line은 hybrid technique에 의해 얻어진 것으로, mouse의 P3U1 myeloma와 BALB/c B-lymphocytes의 교잡세포주 중의 하나인 1E6 cell line이다. 이 cell line의 특징은 serum이 들어 있지 않은 배양액에서 매우 빨리 자라는 것이 특성이고, 재현성이 우수한 bioassay이다. 이 세포주는 기본 배양액인 RPMI-Horse serum에서 centrifugation에 의해 serum을

washing 한 후 cell number를 $10^6/ml$ 로 조정 한 후 control과 실험군 배양액에 well 당 10^4 cell ($10 \mu l$)을 seeding하고 4일간 배양한 후 cell number를 계수한다. 이 방법의 적용범위는 배양액, water 과 culture dishes, pipettes, catheters, tube 등의 기구 및 chemical compound의 독성을 검정하는데 이용할 수 있다.

2-4. Human IVF Lab의 인원에 대한 정도관리

1995년 6월 네덜란드에서 한 사건은 세상을 깜짝 놀라게 하였다. 한 IVF twin baby가 흑·백 인 아이로 동시에 출산된 것이었다. 원인은 몇 가지 가능성을 추측할 수 있지만, 끔찍한 일이 아닐 수 없다. 최근 수년 간 불임 치료술에서는 배란유도, 난자 채취 기술, 수정과 배양 등의 ART 방법의 발달에도 불구하고 여전히 양질의 lab과 임상 기술을 위한 여지는 임상생물학자들의 숙제로 남기고 있다. Lab technique이 완벽하지 못하면 임신을 원하는 환자에게 정신적, 경제적 피해를 줄 수 있다. 또한 영성한 기술은 네덜란드 사건과 같은 재앙을 가져다 줄 것이다. 따라서 IVF Lab의 quality를 높이고, operating procedure를 표준화시키는 과정은 반드시 필요한 일이며, 이를 위해서는 IVF Lab 인원에 대한 공식적인 training 과정의 설립이 필요하고, 양질의 기술을 위한 표준 기술 과정에 대한 조절 위원회가 필요하다.

IVF Lab에 대한 quality control은 앞에서 기술한 IVF 기술과정에서 관여되는 물, 배양액, 배양기 및 기타 기구들에 대한 정도관리를 internal quality control (IQC)이라 하고, IQC를 포함, 이들 test의 임상과 연계한 최종 결과, report의 정확성 및 환자의 만족도에 대한 monitoring과 조절과정을 external quality assurance (EQA)라 한다. 즉 EQA는 Lab의 전반적 수준을 평가하는 과정으로, 이러한 과정을 통해 여러 가지 과정에 대한 지식과 개인의 test를 시행할 수 있는 능력과 정확한 report 요령을 습득하여 임상 의사와 환자에 신뢰를 얻을 수 있는 장점을 갖을 수 있다. 또한 보다 Lab 인원에 대한 적극적 관리 방안은 정기적인 competency testing (적격시험 / 능력시험)을 시행하는 방안이다. 미국에서 시행하고 있는 적격시험은 semen sample 혹은 배양액 등에 대한 각 Lab의 report를 American Association of Bioanalysts (AAB)에서 intra- 혹은 inter lab 수준에서 분석 평가하고 있다.

현재 각 나라에서 시행하고 있는 quality assurance 예를 들어보면 다음과 같다. 네덜란드는 IVF lab의 quality control과 validation system으로 CCKL이라는 QC와 testing을 위한 위원회가 조직되어 있으며, 이들로부터 1996년 'Model Quality Handbook Clinical Embryology'이란 표준화 guide line이 발표되어 실행되고 있다. 이는 protocol이 아닌 guide line으로 lab은 반드시 internal 및 external QC를 시행하도록 정하고 있다. 프랑스에서도 embryologist에 대한 accreditation program이 진행된다. 이는 medically assisted procreation (MAP) Lab에 의해 주관되며, 주로 sperm preparation, oocyte culture, IVF와 ICSI, gamete donation 및 embryo freezing에 대한 공인을 보건부 (Ministry of Health)에서 주고 있다. 영국에서는 자격이 부여된 unit에서 수련과정을 마친 embryologist에 한해 Association of Clinical Embryologist (ACE)에 가입할 자격이 주어진다. ACE에서는 embryologist에 대한 training program을 유지하고, IVF lab에 대한 양질의 기술을 위한 guideline을 제공하는 것을 목적으로 한다. Guideline은 단지 lab protocol에만 제한하는 것이 아니라 양질의 lab에 필요한 모든 것, 즉 전체적 구성, 인원구성, 시설, 장비, 안전도, QC, training 등 모두를 포함한다. 미국에서는 1988년 임상에 관련된 lab들은 Clinical Laboratory Improvement Amendment of 1988 (CLIA'88)에 의해 조절되고 있다. 법률로 정하고 있지는 않지만

ART에 관한 accreditation program이 고안되었다. 1992년 이 program은 Reproductive Laboratory Accreditation Program으로 ASRM과 CAP (College of American Pathologists)에 의해 공동으로 제안되었다. 하지만 비용 문제와 법률적 강제가 없기 때문에 전체 lab의 40% 미만만이 가입되어 있다. 또 다른 방안으로 최근에는 ASRM 산하 ART Society (SART: Society for Assisted Reproductive Technology)에서는 SART member들이 있는 모든 ART lab에 대한 certification program을 요구했으나, 미국의 ART center들에서 SART membership을 요구하지 않는다는 문제점이 있다. 즉 강제 규정 없이 보급해야 하는 dilemma가 존재하지만, 환자의 복지와 시술에 대한 강제 규정이 없이 일하는 lab의 member들에 대한 미국은 반드시 lab 원을 가늠할 기준을 만들 것이다.

3. 요약 및 결론

체외수정 및 이식술의 성공률은 여러 가지 요인, 즉 배란유도와 난자채취 및 이식과정의 의사의 요인과 난자의 배양, 수정, ICSI, cryopreservation 및 각종 배양에 관여된 기기와 관련 소모품들의 정도관리의 lab 요인과 인원에 대한 quality assurance 등에 종합적으로 영향을 받는다.

과거 unit lab에서 배양액 제조에서 모든 과정과 기구 재생에 이르는 모든 과정을 수행하기 위해서는 모든 절차에 반드시 정도관리가 필수적이다. 이는 lab의 시술규모에 따라 시간, 인원 및 경제성에서 적절 혹은 낭비적 요인이 될 수 있다. 소규모의 센터에서는 이미 standardization 된 상용품을 사용함으로써 정도관리 대상을 최소화 할 수 있다.

한편, 정도관리 방법 중 어느 것을 적용해야 하는지는 그 lab의 여건과 경제성을 따져 선택해야 할 것으로 생각한다. 배양 system에 대한 정기적 정도관리에는 mouse embryo bioassay 방법을 적용하고, 보완적인 방법으로 human sperm survival test를 사용하는 것이 바람직 할 것으로 생각된다.

ART lab 인원과 system에 대한 internal quality control과 external quality assurance는 불임학회 산하 embryologists 협회가 구성되고, 협회에서 규정하는 training 및 quality 유지하는 규정과 실기 program이 필요한 시기라고 생각한다.

4. Further Readings

- Bavister BD, Andrews JC. A rapid sperm motility bioassay procedure for quality-control testing of water and culture media. *J In Vitro Fertil Embryo Transfer* 1998; 5(2): 67-75.
- Bertheussen K, Holst N, Forsdahl F and Hoie KE. A new cell culture assay for quality control in IVF. *Human Reprod* 1989; 4(5): 531-5.
- Cohen J, Gilligan A, Esposito W, Schimmel T, Dale B. Ambient air and its potential effects on conception in vitro. *Hum Reprod* 1997; 12(8): 1742-9.
- 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(5): 545-9.
- Davidson A, Vermesh M, Lobo RA and Pauson RJ. Mouse embryo culture as quality control for human in vitro fertilization: the one-cell versus the two-cell model. *Fert Steril* 1988; 49(3): 516-21.

- Fleetham JA, Pattinson HA and Mortimer D. The mouse embryo culture system: improving the sensitivity for use as a quality control assay for human in vitro fertilization. *Fert Steril* 1993; 59(1): 192-6.
- Franco JG, Mauri AL, Petersen CG, Baruffi RLR, Campos MS, Oliveira JB. Efficacy of the sperm survival test for the prediction of oocyte fertilization in culture. *Hum Reprod* 1993; 8(6): 916-8.
- Gardner DK, Lane M. Embryo culture systems. *Handbook of In Vitro Fertilization* 1993; 85-114.
- 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(4): 146-55.
- Kooij RJ, Peeters MF and Velde ER. Quality control and quality assurance in IVF. *Human Reprod* 1997; 12(12): 2585-93.
- Matson PL. Internal quality control and external quality assurance in the IVF laboratory. Development of the Human Embryo In Vitro. *Hum Reprod* 1998; 13(4): 156-65.
- Michael CL. Impact of "non-physician factors" on the "physician factor" of in vitro fertilization success: is it the broth, the cooks, or the statistics? *Fertil Steril* 1999; 71(6): 998-1000.
- Montoro L, Baccaro M, Subias E, Swanson J, Young P, Sueldo C. Detection of endotoxin in human in vitro fertilization by the zona-free mouse embryo assay. *Fertil Steril* 1990; 54(1): 109-112.
- Naz RK, Janous JT, Moody T and Stillman RJ. Factors influencing murine embryo bioassay: effects of proteins, aging of medium, and surgical glove coatings. *Fert Steril* 1986; 46(5): 914-919.
- Panayiotis M, Zavos ES. Mouse embryo bioassay and assisted reproduction media. *Assisted Reprod* 1995; 6(1): 23-6.
- Quinn P, Horstman FC. Is the mouse a good model for the human with respect to the development of the preimplantation embryo in vitro?. *Hum Reprod* 1998; 13(4): 173-83.
- Snyman E, Van der Merwe JV. Endotoxin-polluted medium in a human in vitro fertilization program. *Fertil Steril* 1986; 46(2): 273-6.