

# HIỆU QUẢ NUÔI CẤY PHÔI GIỮA HAI HỆ THỐNG TỬ CẤY BENCHTOP CÓ HOẶC KHÔNG SỬ DỤNG KHÍ TRỘN: MỘT NGHIÊN CỨU CHIA NOÃN

Hà Thị Diễm Uyên, Trần Tú Cẩm, Phạm Thiếu Quân, Huỳnh Gia Bảo, Hồ Mạnh Tường  
Bệnh viện Mỹ Đức, Trung tâm Nghiên cứu HOPE Research Center

DOI 10.46755/vjog.2019.1.599

## Tóm tắt

**Mục tiêu:** So sánh hiệu quả nuôi cấy phôi giữa 2 hệ thống tử cấy benchtop có và không có sử dụng khí trộn sẵn.

**Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu chia noãn được thực hiện từ 02/2017 - 04/2017 tại IVFMD, bệnh viện Mỹ Đức. Tiêu chuẩn nhận bệnh: bệnh nhân  $\leq 38$  tuổi; số chu kỳ điều trị trước đó  $\leq 2$ ; nuôi cấy phôi ngày 5. Tiêu chuẩn loại: các chu kỳ xin cho noãn; IVM; tinh trùng phẫu thuật; bất thường tử cung, vùng chậu.

Tại thời điểm chọc hút noãn, tiến hành chia cụm COCs thành 2 nhóm (1) nuôi cấy phôi bằng tử cấy dùng khí trộn sẵn (tử cấy BT37, Origio, Đan Mạch) và (2) nuôi cấy phôi không sử dụng hệ thống khí trộn sẵn (tử cấy G185, K-system, Đan Mạch). Nếu số cụm COCs là số lẻ thì cụm COC dư ra sẽ được chia vào nhóm 2. Kết cục chính là tỷ lệ phôi nang tốt. Kết cục phụ là tỷ lệ thụ tinh và tỷ lệ tạo phôi nang.

**Kết quả:** Có 60 bệnh nhân tham gia vào nghiên cứu, trong đó có 735 cụm COCs nuôi cấy ở nhóm 1 và 765 cụm COCs nuôi cấy ở nhóm 2. Tỷ lệ phôi nang tốt không có sự khác biệt thống kê giữa 2 nhóm (39.5% so với 38.2%;  $p = 0.89$ ). Không có sự khác biệt về tỷ lệ thụ tinh (90.0% so với 92.0%,  $p = 0.20$ ) cũng như tỷ lệ tạo phôi nang (55.1% so với 56.6%,  $p = 0.87$ ) giữa 2 nhóm.

**Kết luận:** Hệ thống tử cấy có sử dụng khí trộn có hiệu quả tương đương hệ thống tử cấy không sử dụng khí trộn về kết cục nuôi cấy phôi nang. Việc chọn lựa sử dụng hệ thống tử cấy nào phụ thuộc vào số chu kỳ và quy trình quản lý sử dụng tại từng labo thụ tinh trong ống nghiệm.

## Abstract

### THE EFFECTIVENESS OF PRE-MIXED GAS VERSUS NON PRE-MIXED GAS FOR DAY-5 EMBRYO CULTURE: A SIBLING OOCYTE STUDY

**Background and aim:** It has been recently stated that it is time to rethink the current policy of human embryo culture in the presence of

Tác giả liên hệ (Corresponding author):  
Hà Thị Diễm Uyên,  
email: uyen.htd@myduchospital.vn  
Ngày nhận bài (received): 04/03/2019  
Ngày phản biện đánh giá bài báo (revised):  
15/05/2019  
Ngày bài báo được chấp nhận đăng  
(accepted): 01/09/2019

atmospheric oxygen. Low oxygen can be supplied by a pre-mixed gas or a non pre-mixed gas system. The aim of this study was to compare the effectiveness of pre-mixed gas versus non pre-mixed gas system in day-5 embryo culture.

**Patients and Methods:** A sibling oocyte study was conducted from February 2017 to April 2017 at IVFMD, My Duc Hospital. Patients aged  $\leq 38$  years old, IVF cycle numbers  $\leq 2$ , and having day-5 embryo culture were included. Exclusion criteria were patients with oocyte donation cycles, surgical sperm retrieval, in vitro maturation, abnormal uterine.

At the time of oocyte pick up, oocyte-cumulus complex (OCCs) were randomly allocated into two groups, pre-mixed gas (BT37 benchtop, Origio, Denmark) or non pre-mixed gas (G185 benchtop, K-system, Denmark). When there were odd numbers of OCCs, the additional OCC was allocated to the non pre-mixed gas group. OCCs in both groups were treated per local protocol. Primary outcome was good/moderate blastocyst rate. Secondary outcomes were the rate of fertilization and blastulation.

**Results:** OCCs from 60 patients were randomized into 2 groups, 735 OCCs in pre-mixed gas and 765 OCCs in non pre-mixed gas. The rate of good/moderate blastocyst was comparable between two groups (39.5% vs. 38.2%;  $p = 0.89$ ). There was no difference in fertilization rate (90.0% vs. 92.0%,  $p = 0.20$ ) and blastulation rate (55.1% vs. 56.6%,  $p = 0.87$ ).

**Conclusions:** Pre-mixed gas is equally effective in day-5 embryo culture compare to non pre-mixed gas system. The use of each system in daily practice should be based on the availability and workload of an IVF clinic.

## 1. Đặt vấn đề

Tủ cấy trong labo thụ tinh trong ống nghiệm (TTTON) đóng một vai trò quan trọng trong việc tạo ra một môi trường nuôi cấy ổn định và thích hợp để tối ưu hóa sự phát triển phôi và kết cục lâm sàng sau đó. Tủ cấy có nhiệm vụ giữ cho tế bào ở nhiệt độ, độ ẩm và lượng khí tối ưu bằng cách duy trì một môi trường không đổi và luôn sạch. Những thông số then chốt của hệ thống tủ cấy bao gồm: pH môi trường, nhiệt độ, độ thẩm thấu và chất lượng không khí. Với những tiến bộ trong công nghệ, nhiều tủ cấy phôi đã tồn tại với phương pháp khác nhau về điều hòa môi trường bên trong tủ. Vì vậy, lựa chọn một tủ cấy phôi thích hợp cho labo TTTON là một quá trình phức tạp. Ngoài việc kiểm tra các biến số hiển thị, như sự phục hồi / ổn định nhiệt độ, không khí và độ ẩm khí, cần có thêm sự hiểu biết các cách tiếp cận khác nhau được sử dụng bởi mỗi thiết bị để điều chỉnh các biến này (Danielle, 2011). Khi lựa chọn một hệ thống

tủ cấy phù hợp với labo, cần quan tâm đến vấn đề quản lý, bao gồm khối lượng bệnh nhân và quy trình công việc nhằm tối ưu hóa chức năng của tủ cấy được chọn.

G185 (K-system, Origio) và BT37 (Planer, Origio) là hệ thống tủ cấy benchtop nhiều buồng cấy nhỏ có khả năng cung cấp và duy trì sự ổn định  $CO_2$ , khả năng kiểm soát nhiệt độ từng buồng cấy, đo pH bằng đầu dò quang học. Do đó nó cung cấp môi trường nuôi phôi ổn định, tối ưu hóa cho sự phát triển của phôi. Hệ thống tủ cấy benchtop G185 (K-system, Origio) được thế giới đưa vào sử dụng trong nuôi cấy phôi người vào năm 2010 và đã mang lại những thành công lớn trong nuôi cấy phôi IVF. G185 đã được đưa vào sử dụng ở labo chúng tôi năm 2014. BT37 (Planer, Origio) là tủ cấy thế hệ mới của hệ thống benchtop với một vài đặc điểm khác biệt so với G185. Điểm khác biệt lớn nhất là hệ thống phân phối khí. Với G185, sử dụng hệ thống

trộn khí tích hợp và bộ cảm biến CO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub> cho phép kiểm soát chính xác thành phần pha khí trong mỗi buồng cấy. Trong khi đó, nồng độ CO<sub>2</sub> cuối cùng ở BT37 không được trộn lẫn hoặc được điều hòa bởi tủ cấy mà được trộn sẵn bởi công ty cung cấp khí. Hỗn hợp khí sử dụng trong phòng thí nghiệm của chúng tôi là 6,4% CO<sub>2</sub>, 5% O<sub>2</sub> và 89% N<sub>2</sub>. Hệ tủ cấy BT37 sử dụng xi lanh khí đã trộn sẵn có khả năng lọc toàn bộ nguồn cung cấp khí trước khi nó đi vào buồng cấy nhỏ. Mặt khác, hệ tủ cấy G185 tự trộn khí, không sử dụng khí trộn sẵn, có chứa ít nhất một phần không khí trong phòng, điều này yêu cầu chất lượng không khí trong labo phải được đảm bảo, loại bỏ các thành phần bất lợi như VOCs.

Thực tế hiện nay có rất ít nghiên cứu so sánh sự ổn định môi trường cũng như sự phục hồi của các tủ cấy và thậm chí còn có ít nghiên cứu hơn so sánh kết quả sự phát triển phôi hay kết quả hỗ trợ sinh sản (Michel, 2010). Do đó, chúng tôi tiến hành thực hiện nghiên cứu so sánh hiệu quả nuôi cấy phôi giữa 2 hệ tủ cấy benchtop không sử dụng khí trộn sẵn (G185) và sử dụng khí trộn sẵn (BT37) nhằm mục đích giúp các labo chọn lựa hệ tủ cấy phù hợp cho mỗi trung tâm TTON tại Việt Nam.

Mục tiêu của nghiên cứu này nhằm đánh giá hiệu quả nuôi cấy phôi dài ngày sử dụng hai hệ thống tủ cấy CO<sub>2</sub> buồng cấy thể tích nhỏ không sử dụng khí trộn (G185, K-System, Origio) và có sử dụng khí trộn (BT37, Planer, Origio).

## 2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

**2.1 Thiết kế nghiên cứu:** Nghiên cứu chia ngẫu nhiên

**Đối tượng nghiên cứu:** Dữ liệu được thu thập trên bệnh nhân thực hiện thụ tinh trong ống nghiệm thỏa điều kiện nghiên cứu tại IVFMD, Bệnh viện Mỹ Đức từ tháng 02/2017 đến 04/2017.

### 2.2 Tiêu chuẩn nhận loại

- **Tiêu chuẩn nhận:** noãn của những bệnh nhân sau đây sẽ được chọn vào nghiên cứu:

- (i) Tuổi ≤ 38
- (ii) Số chu kỳ điều trị ≤ 2
- (iii) Kích thích phóng noãn bằng GnRH agonist
- (iv) Trữ phôi toàn bộ

### - Tiêu chuẩn loại:

- (i) Chu kỳ xin cho noãn
- (ii) Tình trạng phẫu thuật
- (iii) IVM
- (iv) Bất thường tử cung, vùng chậu (tử cung 1 sừng, 2 sừng, tử cung đôi, tử cung có vách ngăn, polyp lòng tử cung)

### 2.3 Các yếu tố đánh giá kết quả:

Yếu tố chính:

- Tỷ lệ phôi tốt loại 1 + loại 2 (L1+L2) ngày 5

Yếu tố phụ:

- Tỷ lệ tạo phôi ngày 5

- Tỷ lệ thai lâm sàng

- Tỷ lệ làm tổ

Số liệu được quản lý và phân tích bằng phần mềm thống kê chuyên dụng RStudio 1.0.143. Kết quả phôi học giữa 2 nhóm bệnh nhân được phân tích bằng thống kê mô tả (trung bình ± độ lệch chuẩn) và kiểm định sự khác biệt bằng kiểm định T. Các kết cục là biến nhị phân như tỷ lệ beta hCG dương và tỷ lệ thai lâm sàng sẽ được ước tính cho mỗi nhóm bằng cách sử dụng kiểm định Fisher exact cho phân phối nhị phân.

### 2.4 Phương pháp tiến hành:

Bệnh nhân có chỉ định TTON sẽ được kích thích buồng trứng bằng phác đồ GnRH antagonist. Vào ngày 2-3 của vòng kinh, bệnh nhân được cho sử dụng FSH tái tổ hợp (rFSH) với liều khởi đầu phụ thuộc vào số nang noãn thứ cấp và nồng độ AMH theo thường quy (Vuong TNL và cs., 2015). Mũi antagonist được bắt đầu vào ngày 5 của kích thích buồng trứng và kéo dài đến ngày tiêm mũi thuốc gây trưởng thành noãn. Đáp ứng của buồng trứng với thuốc kích thích được đánh giá qua siêu âm nang noãn và định lượng nội tiết (estradiol và progesterone), bắt đầu vào ngày 5 của kích thích buồng trứng và sau đó mỗi 2-3 ngày. Tiêu chuẩn sử dụng thuốc kích thích trưởng thành noãn (hCG 5,000IU hay 10,000 IU) là khi có ít nhất 3 nang có kích thước từ 17mm trở lên trên siêu âm. Chọc hút noãn được tiến hành sau 35-36 giờ kích thích trưởng thành noãn qua ngã âm đạo dưới gây mê và tê tại chỗ.

Sau khi chọc hút và phân chia các cụm COCs thành 2 nhóm, noãn sẽ được nuôi cấy và tách trong khoảng thời gian từ 39-41 giờ sau chọc hút. Ngay sau đó, noãn được ICSI và nuôi cấy ở 2 hệ thống tủ

cấy khác nhau: (1) nuôi cấy trong hệ thống tủ cấy BT37 có sử dụng khí trộn (nhóm 1 - nhóm nghiên cứu) và (2) nuôi cấy trong hệ thống tủ cấy G185 không sử dụng khí trộn (nhóm 2 - nhóm đối chứng). Việc nuôi cấy được tiến hành theo nhóm trong vi giọt môi trường Total Global LP (Life Global), tối đa 3 phôi/giọt 30 $\mu$ l. Kiểm tra thụ tinh từ 16 - 18 giờ sau khi ICSI. Thụ tinh bình thường khi có sự hiện diện của 2 tiền nhân (2PN), các kết quả khác như không thụ tinh, thụ tinh bất thường (1PN,  $\geq$ 3PN) hoặc thoái hóa cũng được ghi nhận. Chất lượng phôi được đánh giá vào ngày 5.

Chuyển phôi được thực hiện bằng cách sử dụng catheter (Tulip 4000 - Genetic, Bi) hút phôi đã cấy sẵn trong môi trường chuyển phôi Total LP (Life Global, Mỹ), bơm vào buồng tử cung dưới hướng dẫn của siêu âm bụng.

Hỗ trợ hoàng thể được thực hiện bằng phác đồ bổ sung estradiol và progesterone ngoại sinh. Sau khi chuyển phôi, bệnh nhân được hẹn thử thai (beta-hCG) 12 ngày sau khi CP ngày 5. Nếu dương tính, bệnh nhân được hẹn tái khám siêu âm thai sau 3 tuần. Hỗ trợ hoàng thể được kéo dài đến thai diễn tiến.

Các đặc điểm nền giữa hai nhóm như tuổi người vợ, chỉ số khối cơ thể (BMI), thời gian vô sinh, số chu kỳ thụ tinh trong ống nghiệm, chỉ định thụ tinh trong ống nghiệm, độ dày nội mạc tử cung, số noãn chọc hút, số noãn MII, tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ tạo phôi nang, tỷ lệ phôi nang tốt vào ngày 5 sẽ được so sánh.

Các số liệu sẽ được trình bày dưới dạng giá trị trung bình  $\pm$  độ lệch chuẩn hay dưới dạng phần trăm. Sự khác biệt giữa các giá trị trung bình được kiểm định bằng Student's t-test. Các giá trị phần trăm được kiểm định sự khác biệt bằng Chi-square test. Ngưỡng khác biệt có ý nghĩa thống kê được xác định khi  $P < 0,05$ .

### 3. Kết quả

Tổng cộng có 1538 noãn được chọc hút từ 60 chu kỳ thoả điều kiện nghiên cứu. Số noãn này được chia ngẫu nhiên làm 2 nhóm trong quá trình chọc hút noãn (nhóm 1 - nhóm đối chứng: nuôi cấy phôi bằng tủ không sử dụng khí trộn G185: 776 noãn; nhóm 2 - nhóm thử nghiệm: nuôi cấy phôi

bằng tủ sử dụng khí trộn sẵn BT37: 762 noãn). Kết quả ICSI, thụ tinh và số phôi tạo ra được thể hiện trong Bảng 1.

Bảng 1. Kết quả chia noãn ngẫu nhiên

	Nhóm 1 G185	Nhóm 2 BT37
Số chu kỳ	60	60
Số noãn chọc hút	776	762
Số noãn ICSI	643	633
Số noãn thụ tinh	588	572
Số phôi L1 + L2 ngày 5	98	107
Số phôi L3 ngày 5	180	156

Các đặc điểm của bệnh nhân tham gia vào nghiên cứu được thể hiện trên Bảng 2. Theo đó, độ tuổi bệnh nhân trung bình trong nghiên cứu này là  $29,57 \pm 4,04$ . Số noãn chọc hút được trung bình trên mỗi bệnh nhân là  $25,21 \pm 7,59$ .

Trong bảng 3, tỷ lệ phôi tốt L1 + L2 ngày 5 khi nuôi bằng hệ thống tủ cấy G185 so với BT37 không có sự khác biệt về mặt thống kê ( $38,2\%$  so với  $39,5\%$ ;  $p = 0,893$ ). Tỷ lệ tạo phôi ngày 5 cũng không có khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa 2 nhóm ( $56,6\%$  so với  $55,1\%$ ;  $p = 0,872$ ).

Theo bảng 4, tỷ lệ thai lâm sàng không có sự khác biệt ý nghĩa thống kê khi nuôi ở 2 hệ tủ cấy G185 và BT37 ( $71\%$  so với  $78,9\%$ ;  $p = 0,949$ ). Tương tự, không có sự khác biệt về tỷ lệ làm tổ khi so sánh giữa hai nhóm 1 và 2 ( $63,3\%$  so với  $60\%$ ;  $p = 0,899$ ).

Bảng 2. Đặc điểm bệnh nhân trong chu kỳ điều trị

Đặc điểm bệnh nhân	Chỉ số
n	60
Tuổi vợ	$29,57 \pm 4,04$
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	$21,15 \pm 2,37$
AMH (ng/ml)	$7,93 \pm 2,76$
AFC	$27,50 \pm 12,98$
Thời gian vô sinh (tháng)	$37,66 \pm 26,09$
Loại vô sinh	
Nguyên phát	27/51 (52,9%)
Thứ phát	24/51 (47,1%)
Chẩn đoán IVF	
Do nam	28 (45,9%)
Tai vòi	12 (19,7%)
RLPN	2 (3,3%)
CRNN	7 (11,5%)
PCOS	9 (14,8%)
Khác	2 (4,9%)
Thời gian KTBT	$10,3 \pm 6,8$
Tổng liều FSH	$2450,7 \pm 863,9$
Số noãn chọc hút	$25,21 \pm 7,59$

CRNN: chưa rõ nguyên nhân; GD/TBT: giảm dự trữ buồng trứng; RLPN: rối loạn phóng noãn; FSH: Follicle stimulating hormone  
Số liệu trình bày dưới dạng n (%) hoặc trung bình ( $\pm$  độ lệch chuẩn)

Bảng 3. Kết quả điều trị so sánh giữa 2 nhóm

	G185	BT37	Giá trị P
n	60	60	
Số noãn ICSI	10,52 ± 3,25	10,46 ± 3,22	0,912
Số noãn thụ tinh	9,63 ± 2,93	9,44 ± 3,28	0,732
Tỷ lệ thụ tinh	92% ± 0,09	90% ± 0,11	0,197
Số phôi ngày 5	4,44 ± 2,48	4,30 ± 2,30	0,738
Tỷ lệ tạo phôi ngày 5	56,6% ± 0,23	55,1% ± 0,24	0,872
Số phôi L1 + L2 ngày 5	1,59 ± 1,44	1,73 ± 1,66	0,607
Tỷ lệ phôi L1 + L2 ngày 5	38,2% ± 0,31	39,5% ± 0,33	0,893
<i>Số liệu trình bày dưới dạng trung bình (± độ lệch chuẩn)</i>			

Bảng 4. Kết quả thai giữa 2 nhóm

	G185	BT37	Giá trị P
n	31	19	
Số phôi chuyển	2,00 ± 0,00	2,00 ± 0,00	-
Số phôi loại 1 chuyển	0,43 ± 0,68	0,60 ± 0,82	0,438
Độ dày NMTC ngày CP	11,11 ± 1,11	11,75 ± 0,77	0,033
Tỷ lệ thai beta hCG	23 (74,2%)	15 (78,9%)	1
Tỷ lệ thai lâm sàng	22 (71%)	15 (78,9%)	0,949
Tỷ lệ lâm tở	38/60 (63,3%)	24/40 (60%)	0,899
<i>Số liệu trình bày dưới dạng n (%) hoặc trung bình (± độ lệch chuẩn)</i>			

## 4. Bàn luận

Đây là nghiên cứu đầu tiên ở Việt Nam so sánh hiệu quả nuôi cấy phôi trên 2 hệ thống tủ cấy có và không có sử dụng khí trộn. Thiết kế chia ngẫu nhiên trong nghiên cứu này giúp các trung tâm có dữ liệu tham khảo tốt hơn trong việc áp dụng và chọn lựa phương án sử dụng hệ tủ cấy thích hợp.

Dựa trên kết quả nghiên cứu, chúng tôi thấy rằng không có sự khác biệt về hiệu quả tạo phôi cũng như kết cục lâm sàng về kết quả thai, kết quả làm tổ khi nuôi cấy bằng tủ cấy không sử dụng khí trộn hay có sử dụng khí trộn sẵn.

Mặc khác, theo hướng dẫn của ESHRE 2015 (Maria Jose và cộng sự, 2016) về thực hành tốt trong labo TTON thì số lượng tủ cấy rất quan trọng và phụ thuộc vào số chu kỳ cũng như thời gian nuôi cấy phôi. Do đó, kết quả nghiên cứu có thể là cơ sở tham khảo và kinh nghiệm để các trung tâm TTON ở Việt Nam nghiên cứu áp dụng các công nghệ, thiết bị mới, cải tiến quy trình nuôi cấy phôi và tăng tỷ lệ thành công. Đồng thời, loại tủ cấy và số lượng tủ cấy nên phù hợp với khối lượng công việc diễn ra tại trung tâm TTON. Vì vậy, với thiết kế riêng biệt cho từng loại hệ thống tủ cấy có khí trộn sẵn và không sử dụng khí trộn sẵn, cần quan tâm tới vấn đề khối lượng công việc tại từng trung tâm TTON cũng như hệ thống quản lý chất lượng tủ cấy nhằm chọn lựa được tủ cấy phù hợp cho từng labo. Chẳng hạn, với trung tâm TTON có số chu kỳ chọc hút dưới 4 ca một ngày và chưa đủ điều kiện xây dựng một hệ thống quản lý chất lượng tốt, có thể sử dụng hệ tủ có khí trộn sẵn như BT37 để giảm nguy cơ và tiết kiệm chi phí bảo trì. Ngược lại với các trung tâm có số chu kỳ chọc hút trên 4 ca một ngày và hệ thống quản lý chất lượng tốt hơn, nên sử dụng hệ tủ cấy không sử dụng khí trộn như G185 để hạn chế đầu tư quá nhiều tủ cấy và tiết kiệm không gian trong labo TTON.

## 5. Kết luận

Kết quả nghiên cứu cho thấy không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê trong kết quả thai từ việc nuôi cấy bằng 2 hệ thống tủ cấy không sử dụng khí trộn (G185) và có sử dụng khí trộn sẵn (BT37). Do đó, chọn lựa hệ tủ cấy nào sẽ phụ thuộc vào số chu kỳ và quy trình quản lý trong sử dụng tại từng labo TTON.

## Tài liệu tham khảo

1. Danielle Paquet. 2011. Comparison of the Cook K-Minc 1000 and the Planner BT37 Benchtop Incubators for human embryo Culture. CFAS 2011 Poster, Canada.
2. Maria Jose De los Santos, Susanna Apter, Giovanni Coticchio, Sophie Debrock, The Eshre Guideline Group on Good Practice in IVF

Labs. 2016. Revised guidelines for good practice in IVF laboratories. Hum Rep 2015, Vol.31, No.4 pp. 685-686.

3. Michel Lee. 2010. Incorporation of the Cook K-minc incubator and Media system into the IVF-Lab: The future of IVF. The journal of Clinical Embryology, Vol 13, issue 3.