

REFERENCES

1. Weed LL. Medical records that guide and teach. *N Engl J Med* 1968; **278**: 593-600.
2. Fries JF. Time-oriented patient records and a computer databank. *JAMA* 1972; **222**: 1536-1542.
3. Hurst JW. Ten reasons why Laurence Weed is right. *N Engl J Med* 1971; **284**: 51-52.
4. Hurst JW. How to implement the Weed system. *Arch Intern Med* 1971; **128**: 456-462.
5. Goldfinger SE. The problem-oriented record: a critique from a believer. *N Engl J Med* 1973; **288**: 606-608.
6. Greenes RA, Barnett GO, Klein SW, Robbins A, Prior RE. Recording, retrieval and review of medical data by physician-computer interaction. *N Engl J Med* 1970; **282**: 307-315.
7. Grossman JH, Barnett GO, Koepsell TD, Nesson HR, Dorsey JL, Phillips R.R. An automated medical record system. *JAMA* 1973; **224**: 1616-1621.
8. Kiely JM, Jergens JL, Hisey BL, Williams PE. A computer based medical record. *JAMA* 1968; **205**: 571-576.
9. Pendergrass HP, Greenes RA, Barnett GO, Poitras JW, Pollalardo A, Marble CW. An on-line computer facility for systematised input of radiology reports. *Radiology* 1969; **92**: 709-713.
10. Lindberg DAB. Collection, evaluation and transmission of hospital laboratory data. *Methods Inf Med* 1967; **6**: 97-107.
11. Davis LS, Colleen MF, Rubin L, Van Brunt WE. Computer-stored medical record. *Comput Biomed Res* 1968; **1**: 452-469.
12. McKusick VA. Computed methods in the preparation of these catalogs. In: *Mendelian Inheritance in Man*. 5th ed. Baltimore: Johns Hopkins University Press, 1978: xxiv.
13. Curran WJ, Hyg SM, Stearns B, Kaplan H. Privacy, confidentiality and other legal considerations in the establishment of a centralised health data system. *N Engl J Med* 1969; **281**: 241-248.
14. Martin J, Murch R. *Application Development Without Programmers*. Savant Research Studies, for Savant Institute, 1981.

The following texts relate to the computerization of medical records:

- Colleen MF. *Medical Information Systems*. Rockville, Md: Office of Scientific and Technical Information, National Center for Health Sciences Research and Development, 1970.
 Feinstein AR. *Clinical Judgement*. Baltimore: Williams & Wilkins, 1967.
 Pratt AW, Thomas LB. Information processing system for pathology data. In: Sommers SC, ed. *Pathology Annual*, 1966. New York: Appleton, 1966.
 Weed LL. *Medical Records, Medical Education and Patient Care*. Cleveland: Press of Case, Western Reserve University, 1969.

'n Vergelykende studie tussen tweesel-embrio's van CBA- en F1-muise in 'n menslike *in vitro* bevrugtingsprogram

T. F. KRUGER, F. S. H. STANDER

Summary

The two-cell mouse embryo can develop in a chemically defined medium to the blastocyst stage but conditions must be strictly controlled. Fresh T6 (Whittingham's) medium is being used weekly for this purpose in our laboratory and subjected to a 5% CO₂-in-air system 24 hours prior to use.

Experiments were designed to determine whether two-cell embryos obtained from an F1 (CBA x C57/B1/6) x F1 cross were superior to the easily obtainable CBA x ICR cross. The aim was to get a 90% blastocyst result for use as a quality control.

Eight experiments were performed over a 6-week period. The CBA two-cell embryos were compared with the F1 group under identical conditions. A total of 177 two-cell embryos were obtained from the CBA group and 214 two-cell embryos from the F1 group. In the CBA group 51 developed to the blastocyst stage (28,8%) compared with 187 in the F1 group (87,4%).

(P<0,0001). In conclusion, it is advisable to obtain F1 mice to use weekly in the laboratory as a quality control measure. The CBA group yields poor cultures, and this leads to unnecessary laboratory confusion.

S Afr Med J 1984; **65**: 209-210.

Tweesel-muisembrio's word vir kwaliteitskontrole van voedingsmedia in 'n menslike *in vitro* bevrugtingsprogram gebruik. In so 'n program word nuwe media weekliks berei en getoets. Indien 90% of meer van die tweeselembrio's tot 'n blastosist-stadium in 'n betrokke medium groei, word die medium as geskik vir die kweek van menslike embrio's beskou.¹

Die vraag het ontstaan of die maklik verkrygbare CBA-muiswyfies gekruis met ICR-mannetjies nie net so geskik is as spesiale geteelde F1-wyfies (CBA x C57/sw) gekruis met F1-mannetjies (CBA x C57/sw) nie. Hierdie studie is derhalwe onderneem met die doel om CBAX/ICR-muisembrio's met F1x/F1-embryo's te vergelyk in 'n *in vitro* bevrugtingsprogram.

Metode

Vars T6-(Whittingham) medium is weekliks opgemaak en in 'n vloeikas gefiltreer nadat die osmolaliteit reggestel is. Die osmola-

liteit is tussen 282 en 288 mosm gereguleer. Glasware (Pyrex) is weekliks voorberei soos beskryf deur Whittingham.¹ In alle gevalle is twee maal gedistilleerde water wat gedeioniseerd is vir die spoel van die artikels gebruik.² Sterilisasië van glasware en spuite is met droë hitte by 160°C vir 180 minute uitgevoer. Die T6-medium is in die glasware voorberei.

F1-wyfies tussen 3 en 5 weke oud is met F1-mannetjies gekruis wat minstens 8 weke oud was. Terselfdertyd is die CBA/sw-wyfies met ICR-mannetjies gekruis. Laasgenoemde groep was telkens net so oud as die F1 groep muise. Superovulasie is bewerkstellig deur tien eenhede menslike menopousale gonadotrofien (MMG) intraperitoneaal toe te dien. Vyf-en-veertig uur later is menslike chorioniese gonadotrofien (MCG) ook intraperitoneaal toegedien en die wyfies by die mannetjies geplaas, een wyfie by een mannetjie. Vier-en-veertig uur later is die muise na servikale dislokasie in 'n lokaal direk langs die weefselkultuurkamer geslag. Die ovaria, buise en 'n gedeelte van die uterus is steriel verwijder en in Whittingham se T6-medium in weefselkultuurbotteltjies geplaas. Hierdie medium is vooraf vir 24 uur in 'n broeikas geplaas by 5% CO₂ in lug. Die pH na 24 uur het tussen 7,3 en 7,5 (pH meter M83 Autocal) gewissel. Die CO₂-inhoud van die broeikas, die PCO₂ en PO₂ van die medium, asook die pH van die medium en die temperatuur in die broeikas is daagliks genoteer. Net voor die herwinning van die embrio's is 1,8 ml T6-medium en 0,2 ml menslike serum in 'n Falconpetribakkie geplaas. Hierdie is dan die finale kultuurmedium vir die embrio's. Ova word verkry deur die buis te knip op dié area waar die embrio's duidelik gesien word, of deur 'n Nr. 30 naald in die fimbriale einde in te plaas en die embrio's met 0,3 ml medium uit die buis te blaas.

Die verdeling van die tweeselembrio's van CBA-muise is met dié van F1-muise d.m.v. 'n omgekeerde mikroskoop vergelyk. Hierdie embrio's is tergelykertyd onder dieselfde omstandighede geëvalueer. Groei en verdeling word ± 21 uur na oorplasing in die voorbereide medium geëvalueer en daarna daagliks. Na 72 uur is die aantal embrio's op die blastosist-vlak getel en dit is as die eindresultaat beskou. 'n Eksperiment duur van die begin van ovulasie-induksie tot die blastosist-stadium *in vitro* bereik is. Die embrio's is deur dieselfde persoon getel sonder dat hy bewus was van watter groep hy hanteer. Die resultate van hierdie eksperimente is met mekaar vergelyk.

Resultate

Na 72 uur is die aantal blastosiste in elke groep genoteer. In eksperiment 1 het slegs twee blastosiste uit 21 tweeselembrio's (CBA-muise) ontwikkel terwyl 22 blastosiste uit 25 tweeselembrio's in die F1-groep ontwikkel het. Hierdie bevindings word ook in Tabel I as 'n persentasie uitgedruk. Agt eksperimente is onder dieselfde omstandighede gedoen en vergelyk. Die totale aantal embrio's wat tot die blastosist-stadium gedeel het, is ook met mekaar vergelyk in die twee groepe. Die χ^2 -toets is gebruik om die resultate te evaluer. F1-embrio's het sonder twyfel die beste resultate gelewer ($P < 0,0001$).

Bespreking

Die metodes van ovulasie-induksie wat in hierdie studie gebruik is, is deur Gates beskryf.³ Die muise is aan donkersiklusse van 10 - 12 uur onderwerp en om 16h00 intraperitoneaal met MMG ingespuit terwyl MCG 45 uur later om 13h00 toegedien is. Die interval tussen die MCG-inspuiting en endogene luteiniserende hormoon (LH)-afskeiding is belangrik. Om die ovulasie effektiel met die eksogene hormone te beheer, moet die MCG 3 uur voor

TABEL I. AANTAL BLASTOSISTE NA 72 UUR

Ekspt	CBA-muise	Verdeling (%)	F1-muise	%
1	2/21	9,5	22/25	88
2	2/23	8,69	20/22	90,9
3	12/32	37,5	44/50	88
4	2/9	22,2	16/20	80
5	13/15	86,6	8/8	100
6	6/24	25	24/28	85,7
7	14/23	60	12/15	80
8	0/36	0	41/46	89,1
Totaal	51/177	28,81*	187/214	87,38*

* $P < 0,0001$.

die verwagte LH-piek toegedien word. Die fisiologiese LH-piek vind tussen 15h00 en 20h00 plaas, ongeveer 48 uur na die MMG-toediening. Hierdie siklus vind in muise plaas wat aan 'n daagliks donkerperiode van ± 10 uur onderwerp is. Dit word voorgestel dat die daagliks donkerperiode vanaf 19h00 tot 05h00 sal duur.³ Die mees gesikte ouderdom vir ovulasie is tussen 19 en 22 dae. Alhoewel slegs 75% van muise op 3,5 weke en 90% op 4 weke paar, vergoed die hoë persentasie ova wat by die jonger muise vrygestel word.

Wat die laboratorium-aspek van 'n *in vitro* bevrugtingsprogram betref, is daar twee kritieke aspekte: die korrekte groeimedium en goed beheerde omstandighede waaronder gewerk moet word. Die muisembrio's dien as kwaliteitskontrole om bogenoemde twee aspekte te toets. Die tipe muis blyk ook van belang te wees. 'n Verkeerde keuse van muise kan onnodige swak resultate gee wat kan lei tot verwarring in die laboratorium. Dit kan die *in vitro* bevrugtingsprogram met weke vertraag. Die resultate van hierdie studie bewys dat die spesiale geteelde F1-muise beter resultate as die maklik bekombare CBA-muise gee. Hierdie resultate stem met dié van Whittingham ooreen.¹ F1-wyfies ovuler meer konstant en hierdie embrio's verdeel meer gerедelik.^{1,4}

Dieselde ondervinding is deur Whitten en Biggers⁵ geraporteer wat betrek eenselembrio's wat tot die blastosist-stadium ontwikkel het. Hulle het die F1-muis verkry van C57 sw/10J x SJL/J-wyfies gepaar met Balb/CDG of F1 Balb/CDG x 129/J-mannetjies.⁵ Dit kan onomwonne gestel word dat die F1-muis sonder twyfel die muis van keuse is in laboratoriumomstandighede soos deur ons beskryf. Die CBA-muis blyk nie gesik te wees as kwaliteitskontrole in ons laboratorium nie.

Die outeurs wil graag mev. E. Conradi en mej. K. Kopper bedank vir hulle ondersteuning in die projek asook mev. A. Hugo vir die voorbereiding van die manuskrip.

VERWYSINGS

- Whittingham DG. Culture of mouse ova. *J Reprod Fertil (Suppl)* 1971; **14**: 7-21.
- Purdy JM. Methods for fertilization and embryo culture *in vitro*. In: Edwards RG, Purdy JM, eds. *Human Conception in vitro*. London: Academic Press, 1982: 736.
- Gates AH. Maximizing yield and developmental uniformity of eggs. In: Daniel JC, red. *Methods in Mammalian Embryology*. San Francisco: WH Freeman, 1970: 64-75.
- Biggers JD, Whitten WK, Whittingham DG. The culture of mouse embryos *in vitro*. In: Daniel JC, red. *Methods in Mammalian Embryology*. San Francisco: WH Freeman, 1970: 86-116.
- Whitten WK, Biggers JD. Complete development *in vitro* of the pre-implantation stages of the mouse in a simple chemically defined medium. *J Reprod Fertil* 1968; **17**: 399-401.