

T/GXAS

团 体 标 准

T/GXAS XXXX—XXXX

# 人类辅助生殖技术实验室 卵胞浆内单精子显微注射技术操作规程

Technical code of operation for intracytoplasmic sperm microinjection  
technology in human assisted reproductive technology laboratory

（征求意见稿）

在提交反馈意见时，请将您知道的相关专利连同支持性文件一并附上。

XXXX – XX – XX 发布

XXXX – XX – XX 实施

广西标准化协会 发 布



目 次

前言 ..... II

1 范围 ..... 1

2 规范性引用文件 ..... 1

3 术语和定义 ..... 1

4 缩略语 ..... 1

5 基本要求 ..... 1

    5.1 人员 ..... 1

    5.2 场所及设施设备 ..... 1

    5.3 试剂及耗材选择 ..... 2

6 ICSI 操作指示..... 2

    6.1 操作前准备 ..... 2

    6.2 精子处理 ..... 2

    6.3 卵丘复合物处理 ..... 2

    6.4 显微操作 ..... 2

    6.5 注意事项 ..... 2

7 档案记录 ..... 3

参考文献 ..... 4

## 前 言

本文件参照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由广西医学会生殖医学分会提出、归口并宣贯。

本文件起草单位：南宁市第二人民医院、山东中医药大学附属医院、武汉大学人民医院、广东省第二人民医院、华中科技大学同济医学院附属协和医院、南昌大学第一附属医院、宜春市妇幼保健院、广西医科大学第一附属医院、广西壮族自治区生殖医院、贵港市人民医院、玉林市妇幼保健院、桂平市人民医院、右江民族医学院附属医院、柳州市妇幼保健院、桂林医学院附属医院。

本文件主要起草人：许常龙、蒋满喜、牛向丽、江莉、聂玲、杨华、李荣、邓星、胡林林、杨曾瑜、宋景艳、于艺、罗金、张洪、张顺、马小星、罗丹、欧湘红、翟丹梅、覃爱平、黄华、全守能、刘冠良、王俊婷、朱燕、许定飞、陈自洪、邓志华、邹彦、李春苑、丘苗苗、曾建伟、韦永全、韦雅环、吴雨茵、韦秋敢、吴卓、谭庆英、张剑、邓李文、周玲、李宁、史秋雯、廖兰英、朱艺萍、朱俞欢、曾江辉、周元圆、苑丽华、相珊、曹现岭、郭子珍、牟珍妮、张良、张怡、段超群。

# 人类辅助生殖技术实验室 卵胞浆内单精子显微注射技术操作规程

## 1 范围

本文件界定了卵胞浆内单精子显微注射技术操作涉及的术语和定义,确立了卵胞浆内单精子显微注射技术操作程序,规定了药品及耗材选择、精子处理、卵丘复合物处理、显微操作等操作指示,描述的操作过程信息的追溯方法。

本文件适用于人类辅助生殖技术实验室进行的卵胞浆内单精子显微注射技术操作。

## 2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中,注日期的引用文件,仅该日期对应的版本适用于本文件;不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

T/GXAS XXX 人类辅助生殖技术实验室 体外受精-胚胎移植技术操作规程

## 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

### 3.1

**人类辅助生殖技术** human assisted reproductive technology;ART

运用医学技术和方法对配子,合子、胚胎进行人工操作,使不育夫妇妊娠的技术,包括人工授精和体外受精-胚胎移植技术及其各种衍生技术。

[来源:YY/T 0995-2015,2.1]

### 3.2

**卵胞浆内单精子显微注射** intracytoplasmic sperm injection;ICSI

在显微操作系统的帮助下,在体外直接将单个精子注入卵母细胞浆内使其受精,然后进行胚胎移植的技术。

## 4 缩略语

ICSI: 卵胞浆内单精子显微注射 (intracytoplasmic sperm injection)

OCCC: 卵丘复合物 (oocyte-cumulus cells complexes)

PVP: 聚乙烯吡咯烷酮 (polyvinyl pyrrolidone)

PN: 原核 (pronucleus)

## 5 基本要求

### 5.1 人员

应符合《人类辅助生殖技术规范》的规定。

### 5.2 场所及设施设备

#### 5.2.1 场所

应符合《人类辅助生殖技术规范》的规定。

#### 5.2.2 设施设备

显微操作系统、各类大中小型培养箱、恒温设备等。

### 5.3 试剂及耗材选择

#### 5.3.1 试剂

透明质酸酶、聚乙烯吡咯烷酮、受精液、卵裂期胚胎培养液及精子洗涤液等。

#### 5.3.2 耗材

5.3.2.1 气体：高纯度 CO<sub>2</sub> 气体或三气混合气。

5.3.2.2 培养皿和试管，ICSI 操作皿（60 mm 平底培养皿）。

5.3.2.3 其他：移液管、巴斯德吸管、显微操作针、剥卵针等。

## 6 ICSI 操作指示

### 6.1 操作前准备

6.1.1 实验室准备程序至捡卵部分的操作程序应符合 T/GXAS XXX 的要求。

6.1.2 ICSI 操作皿的制备：ICSI 操作皿通常由用于卵子注射的 HEPES/MOPS 操作液微滴和加注精液样本的聚乙烯吡咯烷酮（PVP）液微滴所组成。ICSI 操作皿应至少提前 2 h 置于 37 °C 不透气培养箱中进行温度平衡。ICSI 操作皿应标注患者信息。

6.1.3 卵子消化皿：用浓度为 80 IU/ml 的颗粒细胞去除液在 60 mm 规格的培养皿上半部做数滴消化滴（30 μL/滴~40 μL/滴），用洗精受精液在培养皿下半部做数滴洗滴（15 μL/滴~20 μL/滴），覆盖组织培养用油。所有皿上标注患者信息。

6.1.4 胚胎培养皿：在 35 mm 规格的培养皿中用卵裂液做数个滴（15 μL/滴~20 μL/滴），覆盖组织培养用油。所有皿上标注患者信息。

### 6.2 精子处理

去除死精子、杂质和精浆等对后续操作有影响的物质，筛选出质量好的精子，用处理后的精子进行 ICSI。

### 6.3 卵丘复合物处理

核对患者信息。将 OCCC 置于 80 IU/ml 透明质酸酶消化滴中反复吹打，透明质酸酶消化时间应 ≤1 min，去除大部分颗粒细胞，然后迅速移入洗滴内漂洗去除透明质酸酶，继续吹打直至卵子周围的颗粒细胞脱落。将卵子漂洗 3~5 次后，放置最后一滴洗滴中，待用。

### 6.4 显微操作

6.4.1 正确安装 ICSI 注射针、固定针。

6.4.2 待显微注射操作开始前，应核对患者信息。将卵子由卵子消化皿转入 ICSI 操作皿的操作液中，精子置于 PVP 液滴中，并将 ICSI 操作皿置 37 °C 载物台上，进行显微注射。

6.4.3 用注射针水平轻划压精子尾部中点将其制动，将精子从尾部吸入。在操作过程中应不伤及精子颈部。

6.4.4 将卵子微滴移到视野中央，用固定针于 9 点处将卵子固定，极体位于 12 点或 6 点位置，于 3 点或 9 点位置（左手进针者）进行穿刺。

6.4.5 注射针穿透透明带并触及胞质膜，随后继续向卵胞质深部进入，注入精子，穿刺深度以胞质直径的 1/2~2/3 为宜。

6.4.6 所有的卵子注射后应放入准备好的胚胎卵裂培养皿微滴中，并迅速置于 37 °C、6%CO<sub>2</sub> 培养箱中。

6.4.7 ICSI 后 16 h~18 h 内，根据有无两个原核（2PN）及两个极体来判断是否受精。

### 6.5 注意事项

6.5.1 所有的显微操作设备应放置适当，尽可能保持稳定性，显微操作仪应放置在远离震动源（包括门、电梯、气流造成的震动）的位置，尽量避免嘈杂及噪音对工作人员的干扰。倒置显微镜应装有可调节的恒温板。

6.5.2 安装 ICSI 注射针、固定针时避免注射针内产生大量气泡；操作针在插入持针器过程中如遇到较

大阻力时切勿强行插入，应检查持针器管路内是否有破损的玻璃残留物。

6.5.3 若精子制动困难或者操作速度较慢，可在每个培养皿中少加几枚卵子。

6.5.4 注射精子时所注入的液体量应越少越好，精子注入后慢慢撤出注射针，应确保精子不在抽针过程中被带出来。

6.5.5 显微镜上应配置恒温板，微滴应有矿物油覆盖。

6.5.6 注射精子后应防止胞浆倒流进入注射针，并注意培养皿在培养箱外的时间。

## 7 档案记录

应对卵胞浆内单精子显微注射技术操作的试剂及耗材选择、精子处理、卵冠丘复合物处理、显微操作等过程进行记录，并妥善保管记录档案。

### 参 考 文 献

- [1] 中国医师协会生殖医学专业委员会. 卵胞质内单精子注射（ICSI）技术中国专家共识（2023年）[J]. 中华生殖与避孕杂志, 2023, 43 (7) :659-669.
  - [2] YY/T 0995 人类辅助生殖技术用医疗器械 术语和定义
  - [3] 孙莹璞, 邓成艳, 等. 人类辅助生殖技术医生必读[M]. 北京: 人民卫生出版社. 2023. 2
  - [4] 杨爱军, 牛焕付, 李晓云, 王雪楠, 等. 人类辅助生殖技术评审手册[M]. 北京: 科学出版社. 2024. 11
  - [5] 人类辅助生殖技术规范(卫科教发〔2003〕176号)
-