

# T/GXAS

团 体 标 准

T/GXAS XXXX—XXXX

## 人类辅助生殖技术 PGT 胚胎活检操作规程

Technical code of practice for Preimplantation Genetic Testing (PGT)  
embryo biopsy in human assisted reproductive technology

(工作组讨论稿)

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

6 操作流程及要求 ..... 2

7 注意事项 ..... 3

8 档案记录 ..... 错误!未定义书签。

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、翟丹梅、覃爱平、罗丹、许定飞、刘雪丽、陈自洪、李荣、宋景艳、曹现岭、胡林林、杨曾瑜、黄伟媚、张顺、刘冠良、邓星、欧湘红、江莉、公方强、练聪、王俊婷、马小星、舒德峰、聂玲、邓志华、杨华、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、于艺、郭子珍、牟珍妮、张良、漆倩荣、段超群。

# 人类辅助生殖技术 PGT 胚胎活检操作规程

## 1 范围

本文件界定了PGT的术语和定义及缩略语，确立了PGT胚胎活检操作的程序，规定了试剂及耗材的选择以及卵裂球活检、囊胚滋养层细胞活检的操作指示，描述了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PGT胚胎活检的操作。

## 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。

GB 15982 医院消毒卫生标准  
WS/T 311 医务人员手卫生规范  
WS/T 367 医疗机构消毒技术规范

## 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

### 3.1

#### PGT Preimplantation Genetic Testing

在体外受精过程中，对胚胎进行活检并检测其遗传物质（染色体或基因），以筛选无特定遗传异常的胚胎进行移植，从而降低遗传病风险或流产风险的技术。

注：PGT取代了此前胚胎植入前遗传学筛查（PGS）和胚胎植入前遗传学诊断（PGD）的旧称。根据检测目的和对象，PGT可分为非整倍体检测（PGT-A）、单基因遗传病检测（PGT-M）和染色体结构重排检测（PGT-SR）。

## 4 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

PGT：胚胎植入前遗传学检测（Preimplantation Genetic Testing）  
DNA：脱氧核糖核酸（Deoxyribonucleic Acid）  
FISH：荧光原位杂交技术（Fluorescence in Situ Hybridization）  
ICSI：卵胞浆内单精子注射（Intracytoplasmic Sperm Injection）  
PCR：聚合酶链式反应（Polymerase Chain Reaction）  
PGT：胚胎植入前遗传学检测（Preimplantation Genetic Testing）  
PVP：聚乙烯吡咯烷酮（Polyvinyl Pyrrolidone）

## 5 基本要求

### 5.1 人员

5.1.1 从事人类辅助生殖实验室技术工作，并具有5年及以上操作单精子卵胞浆内注射技术的工作经验，参加有关人类胚胎活检技术培训班培训并考核合格。

5.1.2 操作前手卫生应符合WS/T 311的规定。

## 5.2 场所及设备

### 5.2.1 场所

设立体外受精工作站，实验室温度为20℃～25℃，相对湿度为30%～60%，医疗机构消毒技术应符合WS/T 367的规定，医院消毒卫生应符合GB 15982的规定。

### 5.2.2 设备

配备倒置显微镜、体视显微镜、激光系统、显微操作仪、微量离心机等。

## 5.3 试剂及耗材

### 5.3.1 试剂

囊胚培养液、胚胎玻璃化冷冻液、无Ca<sup>2+</sup>/Mg<sup>2+</sup> Hepes培养液、矿物油。

### 5.3.2 耗材

配备显微操作皿、胚胎培养皿、四孔皿、35 μm～40 μm口径卵裂球活检针、25 μm～30 μm口径囊胚活检针、胚胎固定针、140 μm口径剥卵针、剥卵器、活检样品收集管等。

## 6 操作流程及要求

### 6.1 卵裂球活检

#### 6.1.1 活检前准备

活检前1 d下午完成以下培养液及培养皿的准备：

- 囊胚培养皿的制备：取0.5 mL含10%蛋白的囊胚培养液在培养皿上做滴，25 μL/滴，盖上矿物油，没过液面，标上编号，放入37℃的5%～6%CO<sub>2</sub>培养箱内平衡过夜；
- 无Ca<sup>2+</sup>/Mg<sup>2+</sup> Hepes培养液及皿的制备：取1 mL无Ca<sup>2+</sup>/Mg<sup>2+</sup> Hepes培养液，在胚胎培养皿中制成20 μL～25 μL的微滴4～5个，盖上矿物油，每个微滴下标上编号（如1，2，3……），放入37℃不通气的培养箱内待用；
- 活检皿的制备：取显微操作皿，用含10%蛋白的体外操作缓冲液在皿的中间做上下两排各2个20 μL的微滴，标上编号，在两排微滴上方中间用PVP做1个小微滴，盖上矿物油。根据可供活检的胚胎数做相应数量活检皿，1个活检皿中最多活检2个胚胎，将制备好的活检皿放入37℃不通气的培养箱内待用。

#### 6.1.2 活检操作

- 6.1.2.1 活检当日观察胚胎情况，卵裂球数量在6～12个、碎片含量<30%的胚胎用于活检。
- 6.1.2.2 调试好倒置显微镜，将固定针与卵裂球活检针装载在显微操作仪上，调整至最佳位置。
- 6.1.2.3 将待活检的胚胎按照事先制备好的编号放置于无Ca<sup>2+</sup>/Mg<sup>2+</sup> Hepes液滴内平衡5 min，每次浸泡1个胚胎。
- 6.1.2.4 将平衡后的胚胎置于事先制备好的活检皿中，并标注患者姓名和胚胎编号，双人进行核对。将装有胚胎的活检皿放在倒置显微镜的载物台上，下针至合适高度，用胚胎固定针将胚胎固定，用活检针轻轻拨动胚胎，选择卵周间隙较宽处的透明带置于3点钟的位置，用激光软件行激光打孔并将透明带打透，孔径以能吸取卵裂球为准（35 μm～40 μm）。
- 6.1.2.5 将活检针穿过透明带孔，移近应活检的卵裂球，轻轻吸住应检测的单个卵裂球（选择有明显单核、大小与发育阶段相符的卵裂球），边吸卵裂球边退活检针，直至卵裂球完全吸出，将活检针从胚胎旁移开，轻轻排出卵裂球，检查卵裂球是否完整及细胞核是否明显，拍照。
- 6.1.2.6 用吸管将活检后的胚胎转移至事先制备好的囊胚培养皿中，根据相应的编号放入培养滴中，37℃三气培养箱内行囊胚培养至胚胎移植或进行后续的冷冻操作，同时做好相应标记。
- 6.1.2.7 将活检得到的卵裂球，根据检测目的不同，选择合适的检测方法（FISH/PCR）进行后续处理。

## 6.2 囊胚滋养层细胞活检

### 6.2.1 活检前准备

操作前1 d下午完成囊胚活检血的制备：

- a) 取显微操作皿1个，用含10%蛋白的囊胚培养液在皿的中间作上下两排各做2个20  $\mu$ L的微滴，标上编号，在两排微滴上方用PVP做1个小微滴，盖上矿物油；
- b) 根据可供活检胚胎数做相应数量的活检皿，1个活检皿中最多活检2个囊胚，将制备好的活检皿放入37℃、气体浓度为5%O<sub>2</sub>、6%CO<sub>2</sub>、内3 h以上。

### 6.2.2 活检操作

- 6.2.2.1 活检操作前根据工作安排选择适当时机辅助孵化胚胎。
- 6.2.2.2 选择胚胎细胞与透明带之间空隙较大部位，用激光进行打孔并打透，孔径3  $\mu$ m~5  $\mu$ m。
- 6.2.2.3 第5 d和第6 d观察囊胚情况，选择4BC或4CB以上级别囊胚活检。
- 6.2.2.4 调试好倒置显微镜，将胚胎固定针与囊胚活检针装载在显微操作仪上，使固定针和活检针两针尖处于同一视野同一平面上。将囊胚放入制备好的操作皿中，1个囊胚/微滴，并标注患者姓名和胚胎编号，双人进行核对。
- 6.2.2.5 将装有囊胚的活检操作皿放在倒置显微镜的载物台上，下针至合适高度，用活检针轻轻拨动囊胚，将滋养外胚层孵出处（需活检部位）调至3点位置，用固定针在9点位置将囊胚固定，活检的滋养外胚层细胞应远离内细胞团，活检针靠近开口位置，轻轻吸取5~10个滋养外胚层细胞，并将活检针向外拉动，同时用激光软件激光切割滋养外胚层细胞之间的连接，直至完全吸出，将活检针从囊胚旁移开，缓缓排出活检的滋养外胚层细胞。
- 6.2.2.6 若囊胚处于早期，未见滋养外胚层细胞从孔内孵出，于第5 d下午或第6 d再观察囊胚是否扩张。若囊胚已经扩张，仍未见滋养外胚层细胞孵出，则在透明带处重新打孔，活检针伸入透明带吸取滋养外胚层细胞，同时用激光在其细胞连接处切断，吸出滋养外胚层细胞。
- 6.2.2.7 将活检后的囊胚连同活检皿等待后续冷冻操作，同时做好相应标记。
- 6.2.2.8 活检细胞装管按以下方法操作：
  - a) 配戴手套，从冰箱中取出活检样品收集管，收集管顶端标记患者编号及胚胎编号；
  - b) 在体视镜下用140  $\mu$ m剥卵针吸取活检血液滴内的滋养外胚层细胞并转移至对应的样品收集管中，随后在空白液滴内吹洗剥卵针，确定无细胞残留，双人核对；
  - c) 所有活检细胞转移至样品收集管后，用微量离心机离心30 s后置于冰箱至少-20℃保存，5 d内送到PGT实验室进行后续处理。

### 6.3 操作后处理

操作完成后及时检查有无遗漏胚胎冷冻或样品，完成各种活检相关表格登记。

## 7 注意事项

- 7.1 ICSI前去颗粒细胞时，将卵母细胞透明带周围颗粒细胞脱干净。
- 7.2 用于PGT活检患者的囊胚应放于单独培养箱，一次活检一个囊胚。
- 7.3 活检的滋养外胚层细胞数宜为5~10个。
- 7.4 所有活检囊胚应冷冻保存，被冷冻的囊胚应与活检时囊胚及送与PGT诊断的滋养外胚层细胞编号保持一致。

## 8 档案记录

应对PGT胚胎活检操作的试剂及耗材选择以及卵裂球活检、囊胚滋养层细胞活检过程进行记录，并妥善保管记录档案。

### 参 考 文 献

- [1] 国家卫生计生委关于规范人类辅助生殖技术与人类精子库审批的补充规定（国卫妇幼发〔2015〕56号）
  - [2] 黄国宁. 体外受精-胚胎移植实验室技术. 北京：人民卫生出版社, 2012. 2.
  - [3] 张宁媛, 黄国宁, 范立青, 等. 胚胎植入前遗传学诊断与筛查实验室技术指南[J]. 生殖医学杂志, 2018, 27(9):819-827.
  - [4] ZEGERS-HOCHSCHILD, FERNANDO, ADAMSON, G. DAVID, DYER, SILKE, et al. The International Glossary on Infertility and Fertility Care, 2017[J]. Fertility and Sterility: Official Journal of the American Fertility Society, Pacific Coast Fertility Society, and the Canadian Fertility and Andrology Society, 2017, 108(3):393-406.
-