|  |  |
| --- | --- |
| ICS | 11.020 |
| CCS | |  | | --- | | D:\000000部门项目\09标准化插件开发\程序源代码\StandardEditor_ShanDongKeXieYuan\团标首页面字母T.pngD:\000000部门项目\09标准化插件开发\程序源代码\StandardEditor_ShanDongKeXieYuan\团标首页面字母T后面的反斜杠.png GXAS |   C 04 |

团体标准

T/GXAS XXXX—XXXX

人类辅助生殖技术实验室 卵子/胚胎冷冻解冻技术操作规程

Technical code of operation for freezing and thawing technology of eggs or embryos in human assisted reproductive technology laboratory

XXXX - XX - XX发布

XXXX - XX - XX实施

广西标准化协会  发布

目次

[前言 II](#_Toc196926623)

[1 范围 1](#_Toc196926624)

[2 规范性引用文件 1](#_Toc196926625)

[3 术语和定义 1](#_Toc196926626)

[4 基本要求 1](#_Toc196926627)

[4.1 人员 1](#_Toc196926628)

[4.2 场所及设施设备 1](#_Toc196926629)

[4.3 试剂及耗材 1](#_Toc196926630)

[5 卵母细胞冷冻解冻 2](#_Toc196926631)

[5.1 冷冻 2](#_Toc196926632)

[5.2 解冻 2](#_Toc196926633)

[6 卵裂期胚胎冷冻解冻 2](#_Toc196926634)

[6.1 冷冻 3](#_Toc196926635)

[6.2 解冻 3](#_Toc196926636)

[7 囊胚期胚胎冷冻解冻 3](#_Toc196926637)

[7.1 冷冻 3](#_Toc196926638)

[7.2 解冻 4](#_Toc196926639)

[8 档案记录 4](#_Toc196926640)

[参考文献 5](#_Toc196926641)

1. 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、江莉、牛向丽、舒德峰、李荣、聂玲、宋景艳、于艺、王雅琴、段超群、胡林林、杨其、杨曾瑜、张顺、王俊婷、欧湘红、翟丹梅、覃爱平、朱露露、陆清芳、刘冠良、马小星、潘晓、许定飞、陈自洪、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、曹现岭、郭子珍、牟珍妮、张良、刘聪、邓星、罗小琼。

人类辅助生殖技术实验室 卵子/胚胎冷冻解冻技术操作规程

* 1. 范围

本文件界定了人类辅助生殖技术的术语和定义，确立了卵子/胚胎冷冻解冻技术操作的程序，规定了药品及耗材选择以及卵母细胞、卵裂期胚胎、囊胚期胚胎冷冻解冻的操作指示，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子/胚胎玻璃化冷冻解冻技术操作。

* 1. 规范性引用文件

本文件没有规范性引用文件。

* 1. 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

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]

玻璃化冷冻 vitrification

用高浓度的冷冻保护剂溶液置换细胞内水分，经超高速降温由液态转化为玻璃状非晶体化固体状态，从而避免细胞损伤的技术。

* 1. 基本要求
     1. 人员

应符合《人类辅助生殖技术规范》的规定。

* + 1. 场所及设施设备
       1. 场所

应符合《人类辅助生殖技术规范》的规定。

* + - 1. 设施设备

各类大中小型培养箱、超净台、体视显微镜、恒温设备（热板、恒温试管架、水浴锅）、液氮罐、冰箱等。

* + 1. 试剂及耗材
       1. 试剂

选择符合国家规定的玻璃化冷冻液（一般包括平衡液和冷冻液）、玻璃化解冻液（一般包括解冻液、稀释液和基础液）、受精培养液和囊胚培养液。

* + - 1. 耗材

包括但不限于冷冻皿、解冻皿、吸管、剥卵针、液氮桶/盒、冷冻支架/套管、冷冻载体等耗材。

* 1. 卵母细胞冷冻解冻
     1. 冷冻
        1. 操作前准备

试剂2种：平衡液和玻璃化冷冻液。

冷冻载体：玻璃化冷冻载体，载体标注的患者信息、卵母细胞编号及个数，载体颜色对应卵母细胞。

套管：标注的患者信息、储存罐号、冷冻日期、操作人员名字，套管使用不同颜色。

冷冻皿：标注患者信息。

液氮桶/盒：注入的液氮量应在载体装配操作时漫过载体。

* + - 1. 实施操作

500μL平衡液和800μL冷冻液在超净台内复温至室温。

将卵母细胞放到平衡液中静置15min，期间卵母细胞收缩又恢复。

将卵母细胞转入冷冻液，在其中轻缓转移至少3处，然后把卵母细胞放到载体前端，立刻浸入液氮，该步骤应在1min内完成。

套紧杆帽后，放入套管，液氮罐中冻存。

* + - 1. 注意事项

单人单皿，双人核对患者信息。

应用最少量的冷冻液在载体前段形成微滴，以获得最佳冷冻效果。

一支载体应冻存≤3枚卵母细胞。

应避免反复冻融。

冷冻皿及时盖上皿盖，尽量避免渗透压改变。

* + 1. 解冻
       1. 操作前准备

试剂3种：解冻液、稀释液和基础液。

解冻皿：标注患者信息。

玻璃化冷冻液氮桶：注入的液氮量应在载体装配操作时漫过载体。

培养皿：受精培养液。

* + - 1. 实施操作

500μL解冻液复温至37℃，稀释液、基础液1和基础液2复温至室温。

在液氮中拔去载体帽，将载体前端插入解冻液中轻摇，让卵母细胞脱落，该步骤在1min内完成。

将卵母细胞转入稀释液底部，静置3min。

将卵母细胞转入基础液1底部，轻缓清洗，静置5min。

将卵母细胞转入基础液2底部，轻缓清洗，静置5min。

应在37℃条件下将卵母细胞移入培养皿，置于37℃ 6%CO2培养箱培养。

* + - 1. 注意事项

单人单皿，解冻前应双人核对患者信息、冷冻日期、存放具体位置、冷冻套管颜色、载体颜色以及需解冻卵母细胞的序号。

应避免反复冻融。

解冻皿应及时盖上皿盖，尽量避免渗透压改变。

* 1. 卵裂期胚胎冷冻解冻
     1. 冷冻
        1. 操作前准备

试剂2种：平衡液和玻璃化冷冻液。

冷冻载体：玻璃化冷冻载体，载体标注的患者信息、胚胎编号及个数，载体不同颜色对应胚胎发育天数。

套管：标注的患者信息、储存罐号、冷冻日期、操作人员名字，套管使用不同颜色。

冷冻皿：标注患者信息。

液氮桶/盒：注入的液氮量应在载体装配操作时漫过载体。

* + - 1. 实施操作

500μL平衡液和800μL冷冻液在超净台内复温至室温。

将胚胎放到平衡液中静置7min，期间胚胎收缩又恢复。

将胚胎转入冷冻液，在其中轻缓转移至少3处，然后把胚胎放到载体前端，立刻浸入液氮，该步骤应在1min内完成。

套紧杆帽后，放入套管，液氮罐中冻存。

* + - 1. 注意事项

单人单皿，双人核对患者信息。

应用最少量的冷冻液在载体前段形成微滴，以获得最佳冷冻效果。

一支载体应冻存≤2枚胚胎。

应避免反复冻融。

冷冻皿应及时盖上皿盖，尽量避免渗透压改变。

* + 1. 解冻
       1. 操作前准备

试剂3种：解冻液、稀释液和基础液。

解冻皿：标注患者信息。

玻璃化冷冻液氮桶：注入的液氮量应在载体装配操作时漫过载体。

培养皿：囊胚培养液。

* + - 1. 实施操作

500μL解冻液复温至37℃，稀释液、基础液1和基础液2复温至室温。

在液氮中拔去载体帽，将载体前端插入解冻液中轻摇，让胚胎脱落，该步骤在1min内完成。

将胚胎转入稀释液底部，静置3min。

将胚胎转入基础液1底部，轻缓清洗，静置5min。

将胚胎转入基础液2底部，轻缓清洗，静置5min。

应在37℃条件下将胚胎移入培养皿，置于37℃ 6%CO2培养箱培养。

* + - 1. 注意事项

单人单皿，解冻前应双人核对患者信息、冷冻日期、存放具体位置、冷冻外套管颜色、载体颜色以及需解冻胚胎的序号。

应避免反复冻融。

解冻皿及时盖上皿盖，尽量避免渗透压改变。

* 1. 囊胚期胚胎冷冻解冻
     1. 冷冻
        1. 操作前准备

试剂2种：平衡液和玻璃化冷冻液。

冷冻载体：玻璃化冷冻载体，载体标注的患者信息、胚胎编号及个数，载体不同颜色对应囊胚发育天数。

套管：标注的患者信息、储存罐号、冷冻日期、操作人员名字，套管使用不同颜色。

冷冻皿：标注患者信息。

液氮桶/盒：注入的液氮量应在载体装配操作时漫过载体。

激光法使囊胚塌陷，以利于冷冻时脱水。

* + - 1. 实施操作

500μL平衡液和800μL冷冻液在超净台内复温至室温。

将囊胚放到平衡液中静置10min，期间囊胚收缩又恢复。

将囊胚转入冷冻液，在其中轻缓转移至少3处，然后把囊胚放到载体前端，立刻浸入液氮，该步骤应在1min内完成。

套紧杆帽后，放入套管，液氮罐中冻存。

* + - 1. 注意事项

单人单皿，双人核对患者信息。

应用最少量的冷冻液在载体前段形成微滴，以获得最佳冷冻效果。

一支载体应冻存1枚囊胚。

应避免反复冻融。

冷冻皿应及时盖上皿盖，尽量避免渗透压改变。

* + 1. 解冻
       1. 操作前准备

试剂3种：解冻液、稀释液和基础液。

解冻皿：标注患者信息。

玻璃化冷冻液氮桶：注入的液氮量应在载体装配操作时漫过载体。

培养皿：囊胚培养液。

* + - 1. 实施操作

500μL解冻液复温至37℃，稀释液、基础液1和基础液2复温至室温。

在液氮中拔去载体帽，将载体前端插入解冻液中轻摇，让囊胚脱落，该步骤在1min内完成。

将囊胚转入稀释液底部，静置3min。

将囊胚转入基础液1底部，轻缓清洗，静置5min。

将囊胚转入基础液2底部，轻缓清洗，静置5min。

应在37℃条件下将囊胚移入培养皿，置于37℃ 6%CO2培养箱培养。

* + - 1. 注意事项

单人单皿，解冻前应双人核对患者信息、冷冻日期、存放具体位置、冷冻外套管颜色、载体颜色以及需解冻囊胚的序号。

避免反复冻融。

解冻皿及时盖上皿盖，尽量避免渗透压改变。

* 1. 档案记录

应对卵子/胚胎冷冻解冻技术操作的药品及耗材选择以及卵母细胞、卵裂期胚胎、囊胚期胚胎冷冻解冻过程进行记录，并妥善保管记录档案。

参考文献

[1] 人类辅助生殖技术规范(卫科教发〔2003〕176号)

[2] 中国医师协会生殖医学专业委员会. 人类卵母细胞与胚胎玻璃化冷冻中国专家共识（2023年）[J]. 中华生殖与避孕杂志,2023,43(9):879-886.

[3] YY/T 0995 人类辅助生殖技术用医疗器械 术语和定义

[4] 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

[5] 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

