团体标准

《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》（征求意见稿）编制说明

一、项目来源

根据《广西标准化协会关于下达2025年第十六批团体标准制修订项目计划的通知》（桂标协〔2025〕118号）文件精神，由广西医学会提出，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共同起草的团体标准《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》已获立项（项目编号：20251604）。主要起草人及信息如下：

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 姓 名 | 工作单位 | 职务/职称 | 专业 | 主要负责工作 |
| 许常龙 | 南宁市第二人民医院 | 副主任/研究员 | 生殖医学 | 项目设计、立项申报、组织实施、标准起草 |
| 蒋满喜 | 广东省第二人民医院 | 副研究员 | 生殖生物学 | 项目设计、立项申报、组织实施、标准起草 |
| 江莉 | 广西医科大学第一附属医院 | 科副主任/教授 主任医师 | 生殖医学 | 项目立项申报、组织标准起草、专家咨询与审核、验收发布等 |
| 牛向丽 | 广西壮族自治区生殖医院 | 副主任技师 | 动物遗传育种与繁殖专业 | 项目设计、标准起草、编制实施与审核 |
| 舒德峰 | 华科大同济医学院附属协和医院 | 主治医师 | 生殖医学 | 项目设计、标准起草、编制实施与审核 |
| 李荣 | 南宁市第二人民医院 | 主任医师 | 妇科 | 项目设计、标准起草、编制实施与审核 |
| 聂玲 | 南昌大学第一附属医院 | 副主任医师 | 妇科 | 指导标准起草实施、验收发布 |
| 宋景艳 | 山东中医药大学 | 讲师 | 中医妇科学 | 指导标准起草实施、验收发布 |
| 于艺 | 山东中医药大学附属医院 | 副主任医师 | 中医妇科学 | 指导标准起草实施、验收发布 |
| 王雅琴 | 武汉大学人民医院 | 副主任医师 | 生殖医学 | 指导标准起草实施、验收发布 |
| 段超群 | 宜春市妇幼保健院 | 主管技师 | 干细胞工程学 | 数据资料收集、标准起草、撰写 |
| 胡林林 | 右江民族医学院附属医院 | 无/教授 | 动物遗传育种与繁殖专业 | 数据资料收集、标准起草、审核 |
| 杨其 | 贵港市人民医院 | 副主任技师 | 医学检验 | 项目设计、标准起草、编制实施与审核 |
| 杨曾瑜 | 玉林市妇幼保健院 | 胚胎实验室副主任/副主任技师 | 医学检验 | 数据资料收集、标准起草、审核 |
| 张顺 | 桂林医科大学第一附属医院 | 副院长/研究员 | 动物遗传育种与繁殖专业 | 数据资料收集、标准起草、撰写 |
| 王俊婷 | 桂平市人民医院 | 检验技师 | 医学检验 | 数据资料收集、标准起草、审核 |
| 欧湘红 | 广东省第二人民医院 | 主任医师 | 生殖医学 | 数据资料收集、标准起草、审核 |
| 翟丹梅 | 广西医科大学第一附属医院 | 副主任技师 | 动物遗传育种与繁殖专业 | 指导标准起草实施、审核 |
| 覃爱平 | 广西医科大学第一附属医院 | 主任医师 | 妇科 | 数据资料收集、标准起草、审核 |
| 朱露露 | 广西壮族自治区生殖医院 | 助理研究员 | 动物遗传育种与繁殖专业 | 数据资料收集、标准起草、审核 |
| 陆清芳 | 贵港市人民医院 | 技师 | 生殖医学 | 数据资料收集、标准起草、审核 |
| 刘冠良 | 桂平市人民医院 | 主管技师/医师 | 临床检验诊断学 | 数据资料收集、标准起草、审核 |
| 马小星 | 桂平市人民医院 | 检验技师 | 医学检验 | 数据资料收集、标准起草、撰写 |
| 潘晓 | 华科大同济医学院附属协和医院 | 主治医师 | 生殖医学 | 数据资料收集、标准起草、审核 |
| 许定飞 | 南昌大学第一附属医院 | 副主任医师 | 妇科 | 数据资料收集、标准起草、审核 |
| 陈自洪 | 南宁市第二人民医院 | 副主任技师 | 生殖医学 | 数据资料收集、标准起草、撰写 |
| 邓志华 | 南宁市第二人民医院 | 副主任医师 | 生殖医学 | 参与资料收集、编写，论文撰写 |
| 杨华 | 南宁市第二人民医院 | 副主任技师 | 生殖医学 | 参与资料收集、编写，论文撰写 |
| 邹彦 | 南宁市第二人民医院 | 副主任技师 | 生殖医学 | 参与资料收集、编写，论文撰写 |
| 李春苑 | 南宁市第二人民医院 | 助理研究员 | 生殖医学 | 参与资料收集、编写，论文撰写 |
| 丘苗苗 | 南宁市第二人民医院 | 主管护师 | 护理 | 参与资料收集、编写，论文撰写 |
| 曾建伟 | 南宁市第二人民医院 | 主管技师 | 生殖医学 | 参与资料收集、编写，论文撰写 |
| 韦永全 | 南宁市第二人民医院 | 主管技师 | 生殖医学 | 参与资料收集、编写，论文撰写 |
| 韦雅环 | 南宁市第二人民医院 | 主管护师 | 护理 | 参与资料收集、编写，论文撰写 |
| 吴雨茵 | 南宁市第二人民医院 | 技师 | 生殖医学 | 参与资料收集、编写，论文撰写 |
| 韦秋敢 | 南宁市第二人民医院 | 主管护师 | 护理 | 参与资料收集、编写，论文撰写 |
| 吴卓 | 南宁市第二人民医院 | 主治医师 | 生殖医学 | 参与资料收集、编写，论文撰写 |
| 谭庆英 | 南宁市第二人民医院 | 副主任医师 | 妇科 | 参与资料收集、编写，论文撰写 |
| 张剑 | 南宁市第二人民医院 | 副主任医师 | 泌尿外科 | 参与资料收集、编写，论文撰写 |
| 邓李文 | 南宁市第二人民医院 | 副主任医师 | 泌尿外科 | 参与资料收集、编写，论文撰写 |
| 周玲 | 南宁市第二人民医院 | 副主任护师 | 护理 | 参与资料收集、编写，论文撰写 |
| 李宁 | 南宁市第二人民医院 | 副主任医师 | 妇科 | 参与资料收集、编写，论文撰写 |
| 史秋雯 | 南宁市第二人民医院 | 副主任医师 | 生殖医学 | 参与资料收集、编写，论文撰写 |
| 廖兰英 | 南宁市第二人民医院 | 副主任护师 | 护理 | 参与资料收集、编写，论文撰写 |
| 朱艺萍 | 南宁市第二人民医院 | 主管护师 | 护理 | 参与资料收集、编写，论文撰写 |
| 朱俞欢 | 南宁市第二人民医院 | 副主任护师 | 护理 | 参与资料收集、编写，论文撰写 |
| 曾江辉 | 南宁市第二人民医院 | 主任技师 | 临床检验 | 参与资料收集、编写，论文撰写 |
| 周元圆 | 南宁市第二人民医院 | 副主任技师 | 临床检验 | 参与资料收集、编写，论文撰写 |
| 苑丽华 | 山东中医药大学 | 讲师 | 中西医结合临床 | 参与资料收集、编写，论文撰写 |
| 相珊 | 山东中医药大学 | 副教授 | 中医妇科学 | 参与资料收集、编写，论文撰写 |
| 曹现岭 | 山东中医药大学附属医院 | 助理研究员 | 妇产科学 | 参与资料收集、编写，论文撰写 |
| 郭子珍 | 山东中医药大学附属医院 | 主治医师 | 妇产科学 | 参与资料收集、编写，论文撰写 |
| 牟珍妮 | 山东中医药大学附属医院 | 主治医师 | 中西医结合临床 | 参与资料收集、编写，论文撰写 |
| 张良 | 山东中医药大学附属医院 | 副主任医师 | 中医妇科学 | 参与资料收集、编写，论文撰写 |
| 刘聪 | 武汉大学人民医院 | 技师 | 动物遗传育种与繁殖专业 | 参与资料收集、编写，论文撰写 |
| 邓星 | 宜春市妇幼保健院 | 实验师 | 动物遗传育种与繁殖专业 | 参与资料收集、编写，论文撰写 |
| 罗小琼 | 右江民族医学院附属医院 | 主任医师 | 生殖医学 | 参与资料收集、编写，论文撰写 |

二、项目背景及目的意义

根据中国人口协会、国家卫健委发布的数据，中国育龄夫妇的不孕不育率从20年前的2.5%-3%攀升到近年来的12%-15%左右，不孕不育者约5000万，根据《中国不孕不育现状调研报告》，中国的不孕不育发病率在12.5～15%左右，其中10～20%需进行人类辅助生殖技术助孕。近年来常住人口数呈逐步增长趋势，且国家出台三孩生育政策，未来五年人类辅助生殖技术服务需求也将逐渐增加。胚胎冷冻-解冻技术是采用特殊的保护剂和降温措施对胚胎进行冷冻，使其在-196℃的液氮中代谢停止或者降低至最小程度，但又不失去升温后恢复代谢的能力，从而能长期保存胚胎，待需要时对冷冻胚胎进行复苏移植的一种技术。

冷冻适用于的情况：1.鲜胚移植完成后剩余的质量优良的胚胎。2.取卵手术后，因获卵数过多，为防止严重的卵巢过度刺激综合征，可选择全胚冷冻。3.新鲜周期患者出现发热、严重的腹泻等内外科急症，不适合移植者。4.子宫环境不适宜移植者，如子宫内膜过薄、子宫内膜形态欠均等。

冷冻-解冻过程：冷冻过程中，采用冷冻保护剂置换胚胎细胞中的水分，经过平衡、脱水浓缩、冷却、储存等过程，最后将胚胎保存在-196℃的液氮中。解冻时，逐步将冷冻保护剂置换出来，恢复胚胎的活力。

胚胎冷冻主要目的是将多余的胚胎冻存，待需要的时候放回子宫腔内，增加鲜胚移植周期不成功的女性妊娠机会，提高胚胎的利用率。

卵子胚胎冷冻解冻技术操作目前存在的问题：1.解冻后胚胎的质量是移植后获得临床妊娠成功的关键。复苏前后胚胎的质量能预测移植后的妊娠率，新胚胎良好是复苏后胚胎质量的保证。2.子宫内膜是决定移植胚胎能否着床的另一关键因素，只有当子宫内膜的厚度和形态与胚胎发育同步时才有可能妊娠，因此冻融胚胎移植时机的选择极其重要。3.卵细胞的质量无疑是影响胚胎质量的重要因素之一，卵细胞的质量与卵巢储备及患者年龄密切相关。35岁以上的妇女以及卵巢储备功能低下的女性，其卵子质量显著下降，所以高龄及卵巢功能低下者，其胚胎解冻移植后的妊娠率也会受到影响。

卵子胚胎冷冻解冻技术在辅助生殖技术中具有重要意义，主要体现在以下几个方面：1.保存生育能力：卵子和胚胎冷冻技术允许对女性卵子和胚胎进行长期保存，这使得女性在未来任何时候都有可能选择生育，尤其是在癌症治疗、卵巢功能减退等情况下。2.提高成功率：冷冻胚胎保存技术使得在第一次排卵周期中获得的多余胚胎可以保存，供将来使用，这提高了试管婴儿技术的成功率和效率。它允许医生在选择最佳移植时间时具有更大的灵活性。3.医疗干预：对于一些特殊情况，如早期卵巢刺激，可以通过冷冻保存卵子和胚胎，以避免一次性大量排卵带来的健康风险。4.遗传诊断：卵子和胚胎冷冻技术也适用于进行胚胎植入前遗传学检测（PGT），以筛查特定的遗传疾病，确保遗传健康的家庭得到传承。5.法律和伦理：随着技术的发展，相关法律和伦理问题也逐渐显现，卵子和胚胎的冷冻和解冻技术也涉及到家长权、遗传关系等问题，需要在这些领域进行深入探讨和规范。

因此，规范卵子胚胎冷冻解冻技术操作工作，全区推广科学的、符合实际的技术操作方法，提供科学、统一的指导，提高卵子胚胎冷冻解冻技术操作水平，制定团体标准《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》十分必要，这也将对促进卵子胚胎冷冻解冻技术发展具有重要意义。

三、项目编制过程

**（一）成立标准编制工作组**

团体标准《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》项目任务下达后，由南宁市第二人民医院牵头组织成立了标准编制工作组，制定了标准编写方案，明确任务职责，确定工作技术路线，开展标准研制工作。具体编制工作由南宁市第二人民医院组成的标准编制工作组负责。编制工作组下设三个小组，分别是资料收集组、草案编写组、标准实施组。

资料收集组：负责国内关于卵子胚胎冷冻解冻技术的文献资料的查询、收集和整理工作，查阅现存关于卵子胚胎冷冻解冻技术的研究以及国内相关标准的制定。

草案编写组：负责标准立项、征求意见、审定、报批等阶段的标准文本及编制说明的起草工作，包括标准制定过程各阶段标准文本及相关材料的修改和完善。

标准实施组：负责团体标准《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》标准发布后，组织相关部门、医疗机构等，开展标准宣贯培训会，对标准进行研讨和详细解读，使相关人员了解标准，熟悉标准，并能熟练运用标准；为确保标准的实施效果和综合运用率，对标准实施情况进行总结分析，对标准提出持续改进意见。

1. **收集整理文献资料**

通过资料收集组对文献资料的收集和整理，草案编写组主要参考了以下国内相关的期刊书籍。

1.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

2.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

**（三）研讨确定标准特色、创新点和主体内容**

南宁市二医院生殖中心是广西首家开展人类辅助生殖技术的机构，2001年即成功诞生广西首例冻融胚胎试管婴儿，积累了超过20年的冷冻解冻技术经验，中心是广西首批获得国家卫生部批准正式运行人类辅助生殖技术的生殖中心中心是目前全区内获批生殖技术项目最多、最全的生殖中心，拥有供精人工授精技术(目前广西唯一获得批准)、夫精人工授精技术、第一代、第二代、第三代试管婴儿技术，中心技术力量雄厚，中心成立至今，接诊夫妻数十万对，完成试管婴儿、人工授精助孕数万周期，通过这些生殖技术助孕，上万不孕妇女成功受孕，生育了自己的宝宝生殖医疗技术达到国内先进，自治区内领先水平，是广西目前开展人类辅助生殖技术规模和整体实力最强的生殖医学机构之一。

本标准的核心内容及创新点主要有：

（1）首次提出将卵子胚胎冷冻解冻技术操作规程成为标准，标准内容是编制单位多年临床经验的总结，能够填表相关标准空白，有效规范卵子胚胎冷冻解冻技术操作，为各医院的卵子胚胎冷冻解冻技术操作的医师提供技术指导，提高辅助生殖技术水平

（2）本标准最核心技术是进行玻璃化冷冻，玻璃化冷冻是当前冷冻保存卵子和胚胎的核心方法。通过将细胞在极短时间内（1分钟）从常温降至-196℃的液氮环境，减少冰晶形成，确保卵子和胚胎细胞结构的完整性，胚胎复苏率可达98%以上。解冻阶段中通过梯度复温技术逐步替换冷冻保护剂，避免渗透压突变导致的细胞损伤。复苏后培养在模拟体内环境（37℃、6% CO₂等）中恢复胚胎活性，确保移植成功率

标准编制工作组在对收集的资料进行整理研究之后，标准编制工作组召开了标准编制会议，对标准的整体框架结构进行了研究，并对标准的关键性内容进行了初步探讨。经过研究，标准的主体内容确定为卵子胚胎冷冻解冻技术操作的术语和定义、基本要求以及玻璃化冷冻解冻的要求。

1. **调研，形成草案、征求意见稿**

2025年3月，标准编制工作组在前期工作的基础之上，通过理清逻辑脉络，整合已有参考资料中有关卵子胚胎冷冻解冻技术操作的资料，并结合卵子胚胎冷冻解冻技术操作的基础上，按照简化、统一等原则编制完成团体标准《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》（草案）。

2025年4月-5月，标准编制工作组深入起草单位针对卵子胚胎冷冻解冻技术操作进行实地调研学习。通过实地调研，掌握了关于卵子胚胎冷冻解冻技术操作的具体要求。4月24日，在开展实地调研的基础上，标准编制工作组邀请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等起草单位代表座谈讨论，就标准文本主要技术内容进行讨论，收集标准修改意见，会后根据座谈讨论情况对标准草案进行反复修改完善，最终形成团体标准《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》（征求意见稿）及其编制说明。

四、标准制定原则

**（一）实用性原则**

本文件是在充分收集相关资料，分析当前现状、调研的实际情况，在现有文献中参考与卵子胚胎冷冻解冻技术操作相关内容的基础上，结合多年经验而总结起草的。符合当前卵子胚胎冷冻解冻技术操作的需要，有利于行业的长远发展，具有较强的实用性和可操作性。

**（二）协调性原则**

本文件编写过程中注意了与卵子胚胎冷冻解冻技术操作相关法律法规的协调问题，在内容上与现行法律法规、标准协调一致。

**（三）规范性原则**

本文件严格按照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》的要求和规定编写本标准的内容，保证标准的编写质量。

**（四）前瞻性原则**

本文件在兼顾当前区内卵子胚胎冷冻解冻技术操作现实情况的同时，还考虑到了卵子胚胎冷冻解冻技术操作快速发展的趋势和需要，在标准中体现了个别特色性、前瞻性和先进性条款，作为医疗机构以及医务人员开展卵子胚胎冷冻解冻技术操作的指导。

1. 标准的主要指标及依据来源

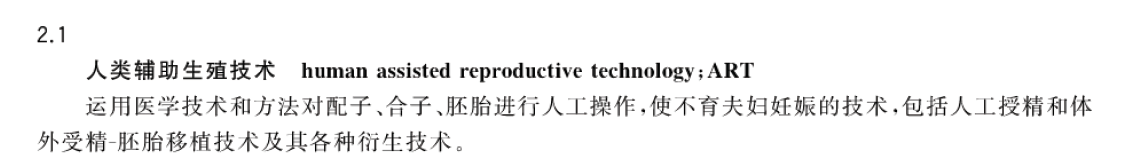
南宁市二医院生殖中心是广西首家开展人类辅助生殖技术的机构，2001年即成功诞生广西首例冻融胚胎试管婴儿，积累了超过20年的冷冻解冻技术经验359。该中心在玻璃化冷冻技术（Vitrification）的应用上尤为突出，通过快速降温（降至-196℃液氮环境）减少冰晶形成，确保卵子和胚胎细胞结构的完整性，胚胎复苏率可达98%以上。此外，中心在冷冻保护剂的配方优化上进行了长期研究，例如采用乙烯乙二醇与蔗糖复合型保护剂，有效降低毒性并提高细胞存活率。

本标准主要指标包括：术语和定义、基本要求以及玻璃化冷冻解冻的要求。标准主要指标及依据来源说明如下：

**（一）术语和定义**

**1、人类辅助生殖技术**

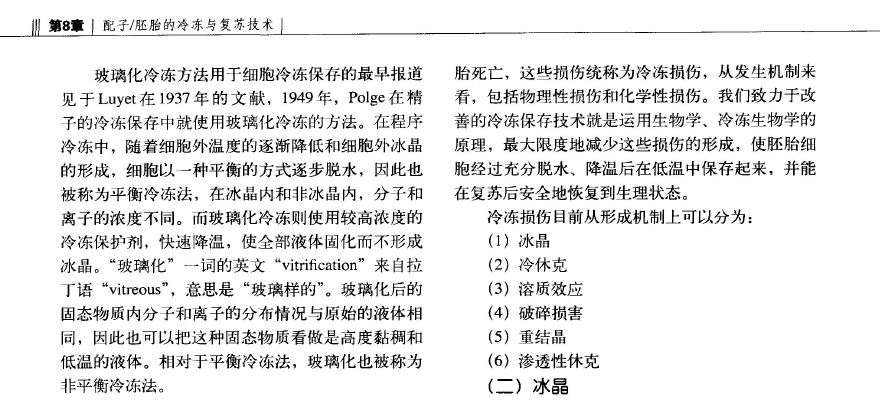
主要依据YY/T 0995-2015《人类辅助生殖技术用医疗器械 术语和定义》的要求来界定。



**来源：YY/T 0995-2015《人类辅助生殖技术用医疗器械 术语和定义》**

**2.玻璃化冷冻**

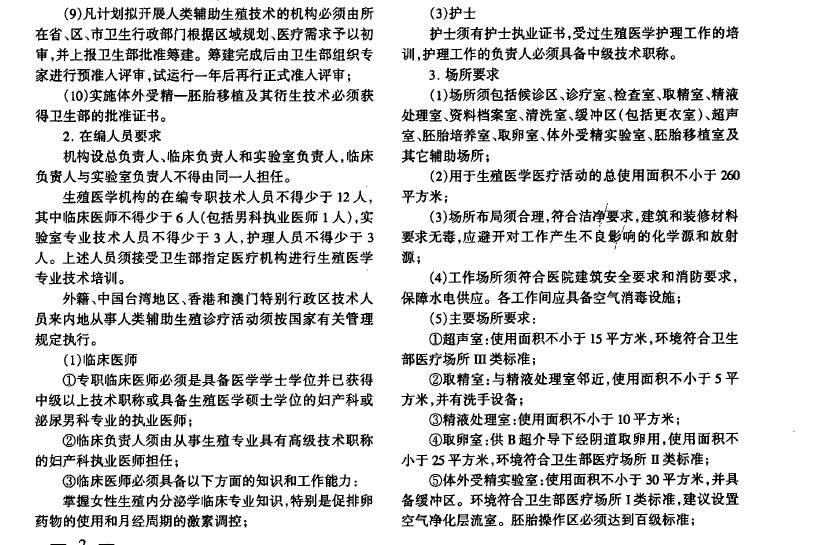
主要是依据《体外受精-胚胎移植实验室技术》（黄国宁，孙海翔主编）以及《人类卵母细胞与胚胎玻璃化冷冻中国专家共识（2023年）》等的要求来界定。

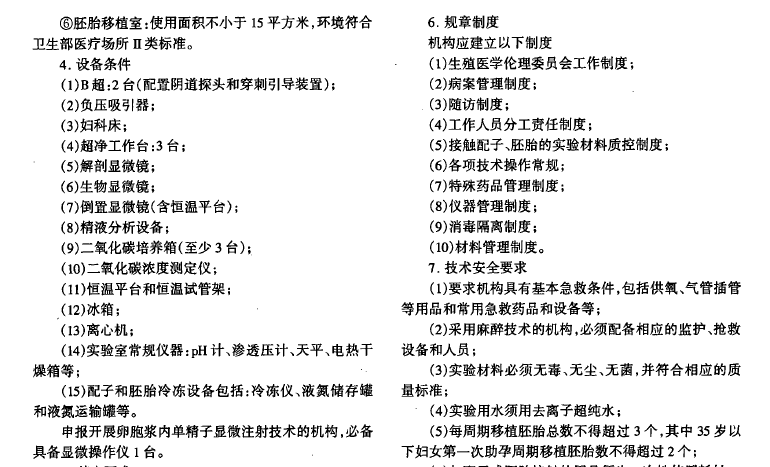


**来源：《体外受精-胚胎移植实验室技术》（黄国宁，孙海翔主编）**

**（二）基本要求**

主要是依据《人类辅助生殖技术规范》要求来确定，《人类辅助生殖技术规范》中已明确了人员、场所要求，因此本文件的人员、场所要求只需符合该规范要求即可。





**来源：《人类辅助生殖技术规范》**

设施设备、耗材及实际主要是依据在开展卵子胚胎冷冻解冻技术操作过程中用到的设施设备、耗材、试剂来确定，设施设备包括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。试剂包括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。耗材包括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。

**（三）卵母细胞冷冻解冻**

**1.冷冻**

**（1）操作前准备**

主要是参考《人类卵母细胞与胚胎玻璃化冷冻中国专家共识（2023年）》和《体外受精-胚胎移植实验室技术》（黄国宁，孙海翔主编）的要求并结合起草单位的实际经验来确定。通常会在玻璃化冷冻载体上标注患者的姓名、年龄、病历号等患者信息。这些信息有助于在后续的操作和使用中准确识别样本所属的患者，避免混淆和错误，因此提出载体需标注患者信息；为了更好地跟踪和管理卵母细胞，会对每个冷冻的卵母细胞进行编号，并注明个数。卵母细胞编号是一个独特的标识符，就像每个人的身份证号码一样，通过这个编号可以在冷冻、解冻、移植等各个环节准确找到特定的卵母细胞。标注个数则能让工作人员清楚了解每个载体上冷冻的卵母细胞数量，方便统计和核对，因此提出载体需标注卵母细胞个数及编号；玻璃化冷冻载体可通过颜色来对应不同的卵母细胞或患者信息。例如，使用不同颜色的载体来区分不同年龄段的患者，或者不同来源的卵母细胞，或者不同发育阶段的胚胎。这样在视觉上可以更直观地进行区分和识别，尤其是在大量样本同时处理时，能提高工作效率，减少错误，因此提出载体标注载体颜色对应卵母细胞与胚胎。

为确保每个患者的样本都能得到准确无误的处理和管理，方便在后续的存储、检索和使用过程中，能够明确样本的归属，避免不同患者样本之间的混淆，因此套管需标注患者信息；在大型的冷冻存储库中，可能会有多个储存罐，每个储存罐又包含大量的套管，清晰的储存罐号标注能够提高查找样本的效率，便于对样本进行有效的管理和追踪，因此提出套管需标注储存编号；记录冷冻日期有助于了解样本的保存时间，对于评估样本的时效性和质量具有重要意义。不同保存时间的样本在后续的使用和检测中可能会有不同的考虑因素，同时也方便按照时间顺序对样本进行整理和管理，因此提出套管需标注冷冻日期；不同颜色的套管便于分类识别，以区分不同类型的样本，在大量样本存放和处理过程中，工作人员可以通过颜色快速识别不同类型的样本，提高工作效率，减少错误，同时可以根据样本的来源、处理方式或存储条件等因素来设置套管颜色，以便于对样本进行分类管理和研究，也可使用特定颜色的套管来标识高风险样本，以引起工作人员的特别注意，确保在处理和存储过程中采取相应的安全防护措施，防止生物安全事故的发生，因此提出套管使用不同颜色。

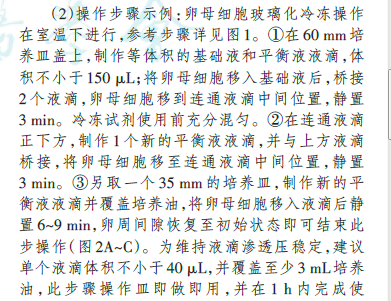
为便在需要时能够快速、准确地识别冷冻皿中的样本所属患者，避免混淆和错误，保障后续医疗操作的顺利进行，因此提出冷冻皿需标注患者信息。

液氮具有极低的温度，能使载体及其所承载的样本迅速降温，实现玻璃化冷冻。足够的液氮量漫过载体，可让载体均匀地与液氮接触，保证载体及样本各个部位都能快速、充分地被冷冻，防止局部温度过高导致冷冻效果不佳，进而有效维持样本的生物活性和结构完整性。充足的液氮能在载体周围形成稳定的低温环境。当液氮蒸发时，会吸收周围的热量，若液氮量不足，无法完全漫过载体，载体暴露在液氮上方的部分就容易受到外界热量的影响，导致温度波动，这可能会对已冷冻的样本造成损害，如冰晶形成、细胞破裂等，而漫过载体的液氮能持续提供低温保护，减少温度波动对样本的影响，因此提出注入的液氮量应在载体装配操作时漫过载体。

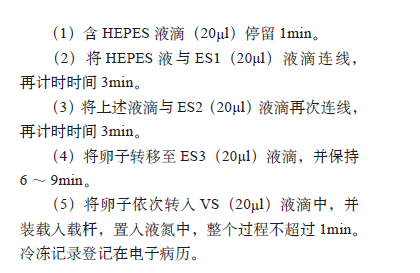
**（2）实施操作**

为减少温度变化对卵母细胞造成损伤，维持平衡液和冷冻液处于一个相对稳定的温度环境，保证液体性能的稳定，提高液体的流动性和可操作性，确保实验操作的准确性和重复性，有利于后续实验步骤的顺利进行，因此平衡液和冷冻液需复温至室温，同时为防止生物污染、保证试验结果准确，复温操作应在超净台内进行。

为使使冷冻保护剂充分渗透，降低细胞内形成冰晶的可能，减少对细胞的损伤，同时确保卵母细胞在冷前处于良好的生理状态，参考《人类卵母细胞与胚胎玻璃化冷冻中国专家共识（2023年）》和《人类辅助生殖技术评审手册》的要求，提出将卵母细胞放到平衡液中静置15 min。

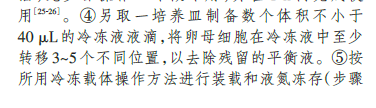


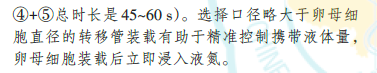
**来源：《人类卵母细胞与胚胎玻璃化冷冻中国专家共识（2023年）》**



**来源：《人类辅助生殖技术评审手册》**

参考《人类卵母细胞与胚胎玻璃化冷冻中国专家共识（2023年）》的要求以及起草单位的明确了卵母细胞要在冷冻液中轻缓转移至少3处，以去除残留的平衡液，同时为减少冰晶形成、缩短卵母细胞在外界环境的暴露时间，实现玻璃化冷冻，卵母细胞放到载体前端后立刻浸入液氮，且要求在1分钟内完成。





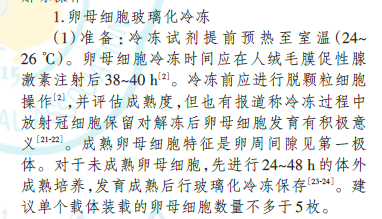
**来源：《人类卵母细胞与胚胎玻璃化冷冻中国专家共识（2023年）》**

**（3）注意事项**

为了防止交叉污染，便于追踪和管理，保证操作准确性，从而确保每个患者的卵母细胞在处理过程中保持独立和安全，避免混淆与错误，因此提出每个患者的卵母细胞都应在单独的培养皿中进行操作，单人单皿。为了进一步提高信息准确性，防止因人为疏忽导致的错误。在整个操作过程中，从卵母细胞的采集到最终的冷冻保存，每一个关键步骤都需要两名操作人员分别对患者的信息进行仔细核对。

少量的冷冻液形成的微滴体积小，在浸入液氮时能够更快速地降温，实现超低温冷冻，使卵母细胞在极短时间内达到玻璃化状态，减少冰晶形成的可能性，避免冰晶对细胞造成损伤，微滴状的冷冻液分布在载体前段，能够更均匀地包裹卵母细胞，使细胞周围的冷冻环境更加一致，提高冷冻的均匀性和效率，因此提出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。

载体的冷冻效率和均匀性有限，卵母细胞数量过多会导致细胞拥挤，冷冻液无法均匀包裹每个细胞，影响冷冻效果。较少的卵母细胞数量便于在冷冻和复苏过程中进行操作。操作人员能更准确地对每枚卵母细胞进行定位、标记和操作，降低因操作复杂导致的细胞丢失或损坏风险。若一支载体上冻存过多卵母细胞，一旦在冷冻、储存或复苏过程中出现温度波动、设备故障等问题，会导致较多卵母细胞受损或死亡，给患者带来较大损失，因此参考《人类卵母细胞与胚胎玻璃化冷冻中国专家共识（2023年）》的要求，并结合操作实际，提出一支载体冻存≤3 枚卵母细胞。



**来源：《人类卵母细胞与胚胎玻璃化冷冻中国专家共识（2023年）》**

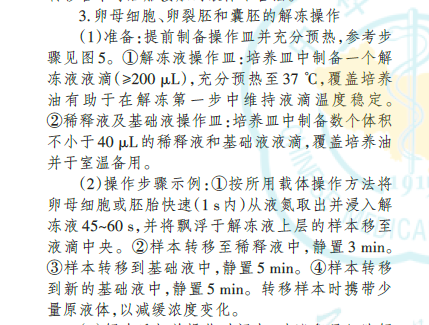
反复冻融会造成冰晶损伤、细胞膜损伤，有可能会导致蛋白质变性以及遗传物质损伤，因此应避免反复冻融。

冷冻皿及时盖上皿盖有助于维持冷冻皿内温度和湿度的稳定。温度和湿度的波动会间接影响冷冻液的渗透压。在冷冻过程中，稳定的环境对于减少冰晶形成、保护细胞结构至关重要。如果环境不稳定，可能导致冷冻液中的水分分布不均匀，局部渗透压发生变化，进而对细胞产生不利影响，因此提出冷冻皿及时盖上皿盖，尽量避免渗透压改变。

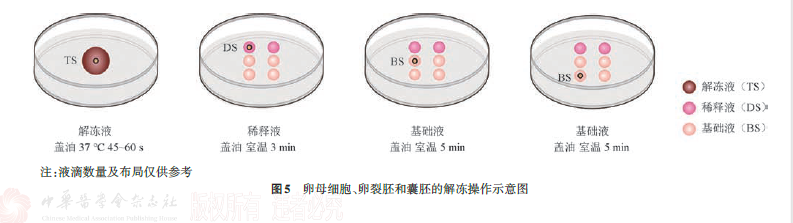
**2.解冻**

**操作前准备**依据来源同卵母细胞冷冻操作。

**实施操作**主要是参考《人类卵母细胞与胚胎玻璃化冷冻中国专家共识（2023年）》的要求并结合起草单位的实际经验来确定，为给卵母细胞提供适宜的生存和发育条件，需要在37℃条件下将卵母细胞移入培养皿，置于37℃ 6% CO2培养箱培养，37℃是人体的生理温度，在这个温度下，卵母细胞内的各种酶能够保持最佳的活性，从而保证细胞的正常代谢和生理功能；培养箱中 6% 的 CO2浓度主要用于调节培养液的 pH 值。CO2溶解在培养液中会形成碳酸，与培养液中的碳酸氢盐缓冲系统共同作用，使培养液的 pH 值稳定在 7.2 -7.4 之间，这是卵母细胞生存的适宜酸碱环境。如果 CO2浓度过高或过低，会导致培养液 pH 值偏离正常范围，影响细胞内的酶活性、细胞膜的电荷分布以及细胞的代谢活动，对卵母细胞造成损害。



**来源：《人类卵母细胞与胚胎玻璃化冷冻中国专家共识（2023年）》**



**来源：《人类卵母细胞与胚胎玻璃化冷冻中国专家共识（2023年）》**

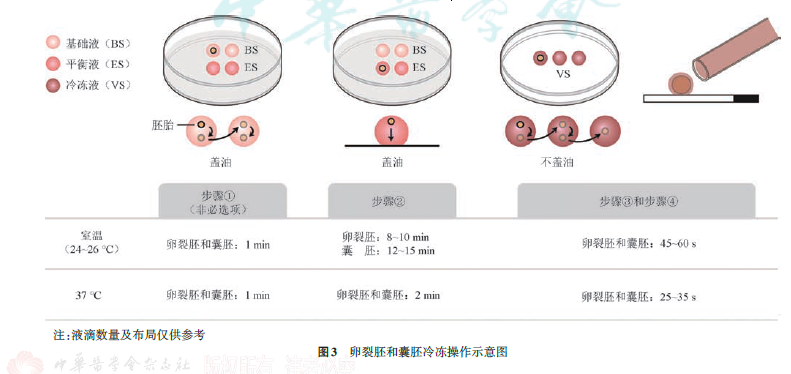
**注意事项**依据来源同卵母细胞冷冻注意事项。

**（四）卵裂期胚胎冷冻解冻**

**1.冷冻**

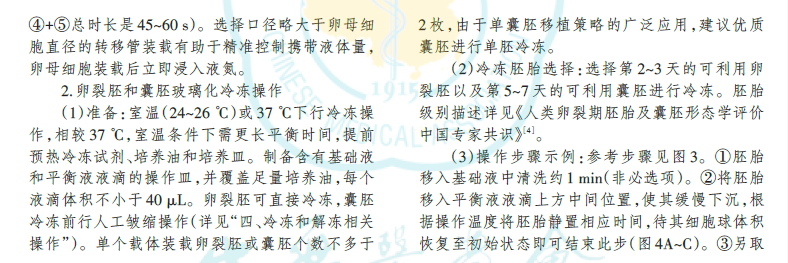
**操作前准备**依据来源同卵母细胞冷冻操作。

**实施操作**主要是参考《人类卵母细胞与胚胎玻璃化冷冻中国专家共识（2023年）》的要求并结合起草单位的实际经验来确定，在胚胎冷冻相关操作中，需要将胚胎移入平衡液液滴上方中间位置，使其缓慢下沉，根据操作温度将胚胎静置相应时间，待其细胞球体积恢复至初始状态即可结束此步。一般来说，这个静置时间通常在数分钟左右，实际操作中常选择静置7分钟，这是经过大量实验和实践验证后得出的较为合适的时间，既能让胚胎有足够的时间适应平衡液的环境，实现细胞内外渗透压的平衡、适应离子环境、稳定 pH 值以及去除杂质和代谢废物等，又不会因过长时间的静置而对胚胎造成不利影响。其余实施操作依据来源同卵母细胞冷冻实施操作。



**来源：《人类卵母细胞与胚胎玻璃化冷冻中国专家共识（2023年）》**

一支载体应冻存≤2枚胚胎主要是参考《人类卵母细胞与胚胎玻璃化冷冻中国专家共识（2023年）》的要求来确定一支载体应冻存≤2枚胚胎，其余注意事项依据来源同卵母细胞冷冻注意事项。

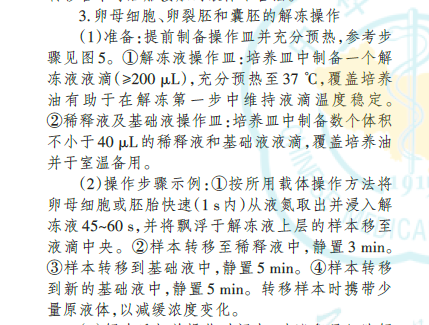


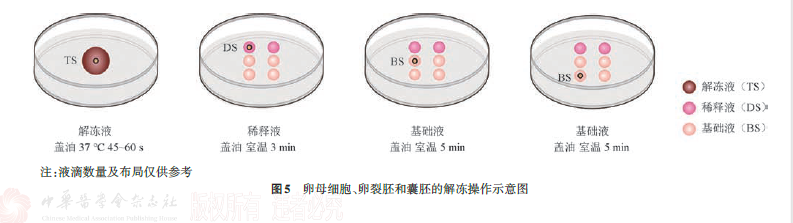
**来源：《人类卵母细胞与胚胎玻璃化冷冻中国专家共识（2023年）》**

**2.解冻**

**操作前准备**依据来源同卵母细胞解冻操作。

**实施操作**主要是参考《人类卵母细胞与胚胎玻璃化冷冻中国专家共识（2023年）》的要求并结合起草单位的实际经验来确定，其余依据来源同卵母细胞解冻操作。





**来源：《人类卵母细胞与胚胎玻璃化冷冻中国专家共识（2023年）》**

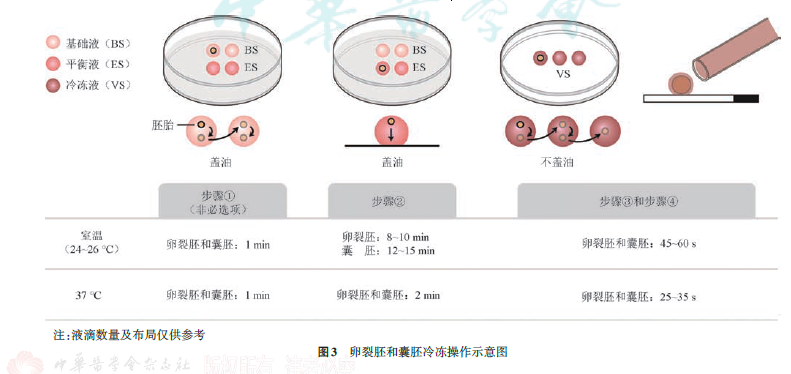
**注意事项**依据来源同卵母细胞解冻注意事项。

**（五）囊胚期胚胎冷冻解冻**

1.冷冻

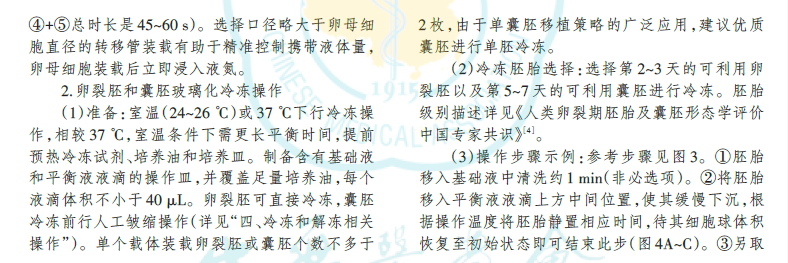
操作前准备依据来源同卵母细胞冷冻操作，此外使用激光法使囊胚塌陷，以利于冷冻时脱水。

实施操作主要是参考《人类卵母细胞与胚胎玻璃化冷冻中国专家共识（2023年）》的要求并结合起草单位的实际经验来确定。一般来说，囊胚在冷冻前需要进行平衡处理，这个静置时间通常在数分钟到十几分钟不等，实际操作中常选择静置 10 分钟，这是经过大量实验和实践验证后得出的较为合适的时间。在这个时间内，囊胚能够与平衡液充分相互作用，使细胞内外的渗透压达到平衡，让囊胚适应冷冻保护剂的环境，减少后续冷冻过程中冰晶形成对细胞的损伤，同时也能保证囊胚的活力和发育潜能。其余实施操作依据来源同卵母细胞冷冻实施操作。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。



**来源：《人类卵母细胞与胚胎玻璃化冷冻中国专家共识（2023年）》**

一支载体应冻存1枚囊胚主要是参考《人类卵母细胞与胚胎玻璃化冷冻中国专家共识（2023年）》的要求来确定一支载体应冻存1枚囊胚，其余注意事项依据来源同卵母细胞冷冻注意事项。

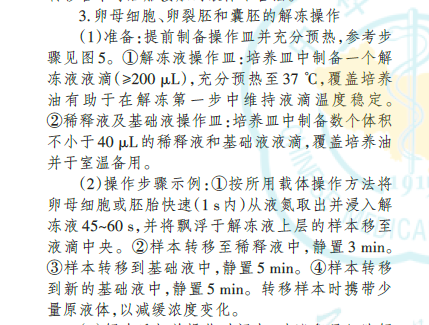


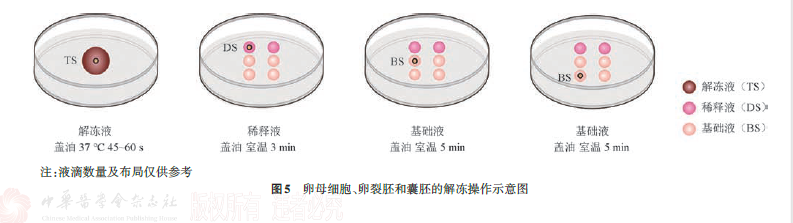
**来源：《人类卵母细胞与胚胎玻璃化冷冻中国专家共识（2023年）》**

2.解冻

操作前准备依据来源同卵母细胞解冻操作。

实施操作主要是参考《人类卵母细胞与胚胎玻璃化冷冻中国专家共识（2023年）》的要求并结合起草单位的实际经验来确定，其余依据来源同卵母细胞解冻操作。





**来源：《人类卵母细胞与胚胎玻璃化冷冻中国专家共识（2023年）》**

注意事项依据来源同卵母细胞解冻注意事项。

**（六）档案记录**

为便于对卵子/胚胎冷冻解冻技术的效果进行评估和分析，同时也为后续的研究和临床实践提供可靠的数据支持，因此提出了档案记录的要求。

六、国内外同类标准制修订情况及与法律法规、强制性标准关系

经查阅，暂无与卵子胚胎冷冻解冻技术的国家标准、行业标准、地方标准和团体标准，未制定有团体标准《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》。

本标准的内容与现行的法律、法规及强制性标准无冲突，标准的编写符合GB/T 1.1—2020的要求。

七、重大分歧意见的处理经过和依据

本标准研制过程中无重大分歧意见。

八、自我承诺

本标准内容与各项指标不低于强制性标准要求。

团体标准《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》标准编制工作组

2025年5月20日