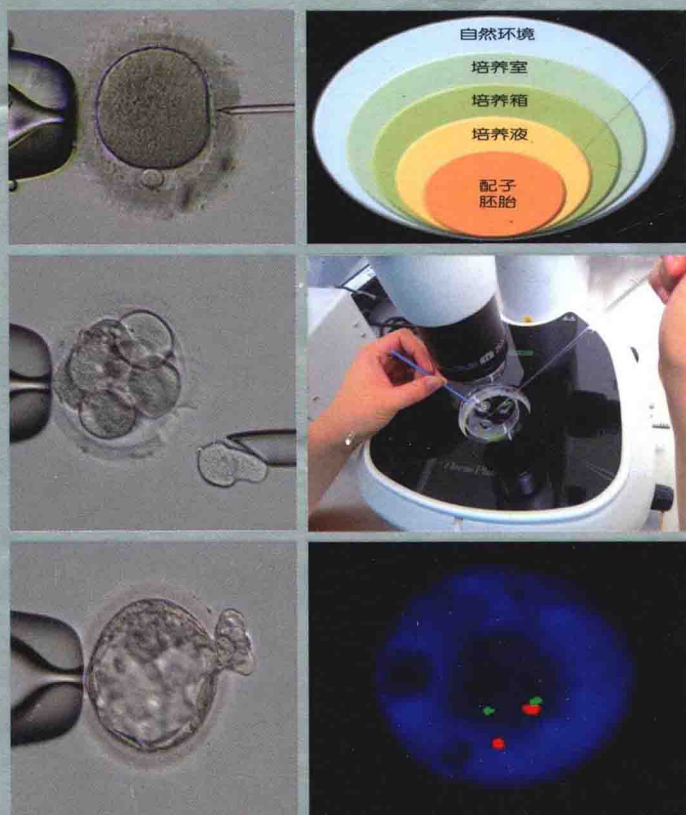




“十二五”国家重点图书



生殖医学 实验室技术

Laboratory Techniques of
Assisted Reproduction

主编 刘平 乔杰



北京大学医学出版社



国家出版基金项目
NATIONAL PUBLICATION FOUNDATION

“十二五”国家重点图书

Laboratory Techniques of Assisted Reproduction

生殖医学实验室技术

主 编 刘 平 乔 杰
副主编 廉 颖 黄 锦 任秀莲

北京大学医学出版社

SHENGZHI YIXUE SHIYANSHI JISHU

图书在版编目(CIP)数据

生殖医学实验室技术 / 刘平, 乔杰主编. — 北京:
北京大学医学出版社, 2013.12

ISBN 978-7-5659-0653-4

I. ①生… II. ①刘… ②乔… III. ①生殖医学—
实验室诊断 IV. ①R339.2

中国版本图书馆CIP数据核字(2013)第222564号

生殖医学实验室技术

主 编: 刘平 乔杰

出版发行: 北京大学医学出版社(电话: 010-82802230)

地 址: (100191) 北京市海淀区学院路 38 号 北京大学医学部院内

网 址: <http://www.pumpress.com.cn>

E-mail: booksale@bjmu.edu.cn

印 刷: 北京圣彩虹制版印刷技术有限公司

经 销: 新华书店

责任编辑: 张凌凌 陈然 责任校对: 金彤文 责任印制: 张京生

开 本: 889 mm × 1194 mm 1/16 印张: 24.5 字数: 753 千字

版 次: 2013 年 12 月第 1 版 2013 年 12 月第 1 次印刷

书 号: ISBN 978-7-5659-0653-4

定 价: 220.00 元

版权所有, 违者必究

(凡属质量问题请与本社发行部联系退换)

主编简介



刘平 医学博士，主任医师，北京大学第三医院生殖医学中心副主任，现任中华医学会生殖医学分会实验室学组副组长，北京生殖医学分会副主任委员等。1984年起配合导师张丽珠教授在国内率先开展以试管婴儿技术为代表的现代辅助生殖技术，是中国大陆首例试管婴儿、首例配子输卵管内移植和冻融胚胎及赠卵、赠精试管婴儿的主要研制者之一。曾多次获得国家科学技术进步奖及原卫生部、教育部和北京市等颁发的科技进步奖。

主编简介



乔杰 医学博士，主任医师，教授，博士生导师，“973”首席科学家，国家杰出青年基金获得者，长江学者特聘教授，新世纪百千万人才。一直在北京大学第三医院从事生殖健康的临床与基础研究工作。曾作为访问学者在香港大学玛丽医院研习生殖内分泌，并在美国斯坦福大学做博士后，研究生殖疾病发病机制。现任北京大学第三医院院长、妇产科主任、生殖医学中心主任，北京大学妇产科学系主任，中华医学会生殖医学分会候任主任委员，北京医学会生殖医

学分会主任委员，亚太地区生殖医学学会执行委员等多个社会任职。曾获高校科技进步奖一等奖（2008年）、国家科技进步奖二等奖（2011年），带领团队入选“教育部创新团队”、获批成为“教育部重点实验室”和“北京市重点实验室”。2010年成为国家重大科学研究计划（“973”）项目“雌性生育力维持调节机制研究及生殖资源库建立”首席科学家。2011年获得何梁何利基金科学与技术进步奖。

作者名单

(按姓氏笔画排序)

北京大学第三医院

石小丹	朱锦亮	朱静怡	任秀莲	庄新杰
刘平	刘琴丽	严杰	李明	李莉
李敏	李军生	杨池荪	邵敏杰	陈媛
陈立雪	林胜利	金小虎	郑晓英	赵平亮
姜辉	高雪峰	唐文豪	黄锦	常亮
廉颖				

国家人口和计划生育委员会科学技术研究所

卢文红 谷翊群 周芳 周善杰 梁小薇

北京大学人民医院

石程田莉陈曦

北京大学第一医院

郅艳荣

南京军区南京总医院

商学军

武警江苏总队南京医院

陆金春

序

20 世纪下半叶以来，生殖医学有了飞速的发展。2010 年试管婴儿之父罗伯特·爱德华兹获得诺贝尔生理学或医学奖，是在世界第一例试管婴儿出生后的 30 年，表明了生殖医学在 20 世纪科学研究中的重要地位。

生殖医学领域的新理论、新技术不断出现，使这一学科的相关知识不断更新。目前生殖医学技术，特别是辅助生殖技术在国内各地开始广泛开展，全国有生殖医学中心三百余家，从业人员逾万人，很多从业人员亟需知识更新，使临床实践不断规范化，提高国内生殖医学领域的医疗水平。

目前国内生殖医学领域尚缺乏兼具科学性、先进性、实用性的学术专著。北京大学第三医院生殖医学中心与北京大学医学出版社联合实施了“生育力保护与生殖储备”项目，本项目获得国家出版基金资助，并被列为“十二五”国家重点图书，希望以书籍为载体，通过知识的传播和规范的建立为国内生殖医学的发展作出贡献。

本项目包括《生育力保护与生殖储备》《生殖医学实验室技术》《生殖医学微创手术学》和《生殖内分泌疾病诊断与治疗》四本学术专著，

分别从基础研究、临床诊治、重要技术等方面展示生殖医学领域的主要理论、技术手段等最新研究成果。其中《生育力保护与生殖储备》是本项目核心专著，将集中展示国家重大科学研究计划（“973”）项目“雌性生育力维持调节机制研究及生殖资源库建立”的最新研究成果，重在生殖力的保护与恢复。《生殖医学实验室技术》以生殖医学最重要的技术——辅助生殖技术为核心阐述生殖医学常用的技术手段。《生殖医学微创手术学》主要介绍生殖医学临床手术方法及技巧。《生殖内分泌疾病诊断与治疗》重在生殖医学临床诊治的规范化操作。

本套书由北京大学生殖医学研究领域的专家、学者共同编写，作者团队的专业水平及科研水平处于国内领先地位。本套书的出版将使更多从业人员了解生殖医学领域的研究进展，进一步推动生殖医学的全面发展。

张丽珠

2012 年 2 月，北京

前言

辅助生殖技术的核心是体外受精胚胎移植技术，俗称试管婴儿技术。1978年7月25日，世界上第一个试管婴儿路易斯·布朗诞生。之后的十年内，世界上共诞生了六千多例试管婴儿。中国大陆第一例试管婴儿于1988年3月10日在北京大学第三医院诞生，标志着我国生殖医学技术迈出了可喜的一步。2010年诺贝尔生理学 and 医学奖颁发给世界试管婴儿之父罗伯特·爱德华兹教授。那时，世界上至少有450万个家庭借助试管婴儿技术获得了自己的后代。

生殖医学实验室技术包含哪些内容？体外受精胚胎移植技术是现代辅助生殖技术的基本技术平台，其体外培养体系能支持人卵和精子完成受精过程和早期发育。在此基础上发展出的单精子卵母细胞内注射助受精技术有效地解决了因男性精子数量和质量严重不足造成的不孕不育；着床前胚胎遗传学诊断和筛查技术面向有染色体异常或携带遗传性致病基因的夫妇，通过对体外形成的胚胎进行遗传分析筛查，阻断有遗传异常的胚胎受孕，减少反复流产和生出遗传缺陷儿的风险；冻融储存技术不仅能储存治疗过程中多余的配子（精子和卵）及胚胎，而且越来越多地作为人类生殖储备，为因故推迟生育或因肿瘤性疾病需要接受放化疗的患者提供生育力储备。

辅助生殖实验室可以说是最神圣的医学实验室，在我们这个时代，它已成为越来越多的新生命开始的地方。从场地环境的规划建设，到仪器设备正常运行，各项常规技术的合理实施，人员设备管理质量控制，新技术的探索等，辅助生殖技术实验室充满了责任和挑战。随着生殖生物学的发展和技术操作经验的积累，人们对辅助生殖技术的掌控能力进一步提高。同时，大量商品化生产的专业化设备、耗材和试剂等，为简化辅助生殖实验室技术流程和成功实施辅助生殖技术提供了有力的物质保障。辅助生殖实验室工作也从以往的研究探索性工作，逐渐发展为对相对成熟

技术的有序实施。

随着这项技术的推广和普及，人们似乎不再像过去那样对试管婴儿技术感到神秘了，但是对生殖医学实验室技术人员来说，他们的工作永远是要严谨、细致和精益求精的。试管婴儿技术建立之初曾经是被宗教反对、有伦理争议并且受医学质疑的技术。经过三十多年的认识和观察，人们逐渐打消了很多质疑。但不可轻视的是，在实施这项“造人”技术时，最重要的是对后代的安全性。

本书由北京大学第三医院、北京大学人民医院、国家人口和计划生育委员会科学技术研究所、北京大学第一医院等六家单位生殖医学实验室的技术骨干力量联手集体创作，理论结合实际，力求实用性。实验室设计、管理、质控等部分以北京大学第三医院生殖医学中心生殖实验室的基本流程布局和技术常规为基础，结合作者对本领域国内外规范的认识、理解进行编写。最近十几年以来，我国的辅助生殖医学技术得到快速发展和普及，各种学术交流和技术培训活动十分活跃。然而，在从业者中也存在缺乏基本理论知识培训，没有详细的技术操作指南可循等问题。本书将北京大学第三医院辅助生殖技术实验室的操作常规一并呈现给同行们，供大家借鉴，并期待争鸣。此外，本书还包括了生殖内分泌实验室性激素测定技术、生殖遗传学实验室的细胞遗传学技术等内容。

生殖医学临床和实验室技术的发展，不仅解决了临床医学所面临的不孕不育问题，也为探索生殖奥秘翻开崭新的一页。应该说，辅助生殖实验室技术仍没有达到尽善尽美，体外过程仍没能做到对体内过程的完整模拟复制，我们还要不断地追求探索以获得更大收益。

刘平 乔杰
2013年10月

第1篇 IVF-ET 实验室技术

1	IVF-ET 实验室的建立和管理	3
第1节	IVF-ET 实验室的建立	3
第2节	IVF-ET 实验室的管理	14
第3节	IVF-ET 实验室的质量控制	16
第4节	IVF-ET 实验室的安全	30
2	体外受精技术	37
第1节	体外培养体系	37
第2节	卵母细胞的收集及体外培养	44
第3节	精液采集及处理	55
第4节	体外受精方式的选择	71
3	受精卵与胚胎评估技术	86
第1节	受精过程	86
第2节	受精评估	88
第3节	胚胎培养与胚胎评估	100
4	配子、胚胎冻融技术	121
第1节	冷冻生物学基础	121
第2节	卵裂期胚胎的冻融	124
第3节	囊胚的冻融	131
第4节	卵母细胞的冻融	135
第5节	精液、PESA、TESA 精子的冷冻保存	140
5	显微操作技术	147
第1节	卵母细胞胞质内单精子注射	147
第2节	辅助孵化	157
第3节	PGD 活检技术	161

6	未成熟卵的体外成熟技术	170
第1节	卵母细胞成熟的分子调控机制	170
第2节	人卵母细胞的体外成熟研究	173
第3节	人卵母细胞体外成熟的临床应用	179
7	着床前遗传学诊断与非整倍体筛查	190
第1节	PGD/PGS 的发展历程	190
第2节	PGD/PGS 的技术及应用	192
第3节	PGD/PGS 的风险、问题及伦理学思考	207

第2篇 人工授精实验室技术

8	人工授精实验室技术	213
第1节	人工授精概述	213
第2节	人工授精实验室技术	217
第3节	供精人工授精	220
第4节	人工授精结局及影响成功的因素	222

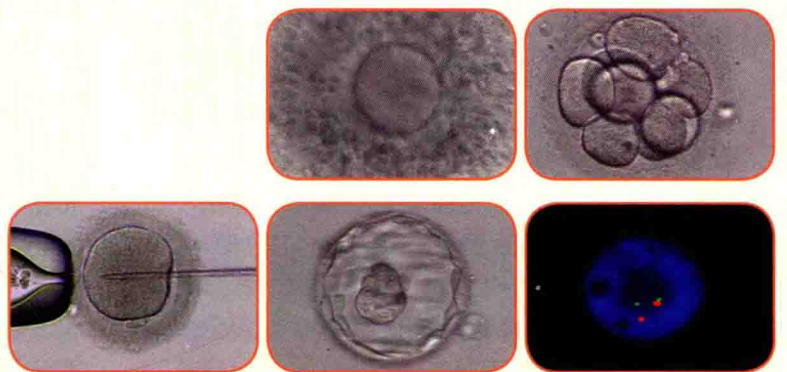
第3篇 生殖医学实验室其他技术

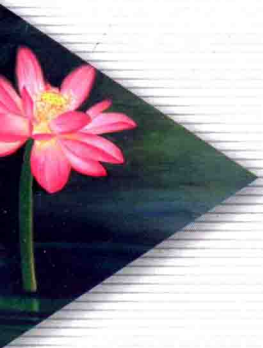
9	生殖激素检测及临床意义	229
第1节	生殖激素的检测	229
第2节	生殖激素检测的临床意义	231
第3节	辅助生育技术中常用激素的临床意义	235

10 男科实验室技术	238
第1节 男科实验室的建立	238
第2节 基本实验室检查	240
第3节 精子制备和精子冷冻 技术	278
第4节 男科实验室的安全	279
第5节 实验室质量保证	281
11 生殖遗传实验室技术	289
第1节 细胞遗传学技术	289

第2节 分子遗传学技术	303
第3节 产前诊断技术	314
12 辅助生殖技术相关动物实验	323
第1节 小鼠体外受精技术	323
第2节 小鼠胚胎操作相关技术 ...	340
13 生殖储备技术	357
第1节 女性生育力保存	357
第2节 男性生育力保存	370
索引	373

第1篇 IVF-ET 实验室技术





1 IVF-ET实验室的建立和管理

刘平 廉颖 陈立雪

体外受精-胚胎移植(in vitro fertilization and embryo transfer, IVF-ET)实验室是辅助生殖技术(assisted reproductive technology, ART)最终实施的场所,可以将它比喻成辅助生育技术的“心脏”。由于在IVF-ET实验室内主要从事人配

子和胚胎的操作,因此它的建立有一定的特殊性。下面我们将以北京大学第三医院生殖医学中心IVF-ET实验室为例就IVF-ET实验室的选址、设置及环境要求、仪器设备、人员配备、运行模式及管理等方面展开详细的论述。

第1节 IVF-ET实验室的建立

一、选址

选择IVF-ET实验室建立的场所最基本的原则是远离一切对人配子和胚胎发育不利的物质。这些物质主要包括以下几种:

(1) 有毒有害气体: 比如挥发性有机化合物(volatile organic compound, VOC)。VOC是强挥发、有特殊刺激性气味、有毒的有机气体,是非工业环境中最常见的空气污染物之一。常见VOC有苯乙烯、丙二醇、甘烷、酚、甲苯、乙苯、二甲苯、甲醛等,部分已被列为致癌物,如氯乙烯、苯、多环芳烃等。当房间内VOC达到一定浓度时,会引起头痛、恶心、呕吐、乏力等症状,严重时会引起抽搐、昏迷,伤害肝、肾、大脑和神经系统,造成记忆力减退等严重后果。室内空气中VOC种类很多,且浓度存在很大差异,将其逐一测定十分费时和困难。因此,通常采用总挥发性有机物(total volatile organic compounds, TVOC)的浓度来表示室内空气VOC的总污染水平^[1-2]。WHO 1989年对TVOC的定义为,熔点低于室温而沸点在50~260℃的挥发性有机化合物的总称。人类胚胎对室内环

境非常敏感,VOC含量对胚胎的影响至关重要,当VOC含量超过一定界限时则会对胚胎造成损伤,影响胚胎的着床^[3]。VOC的来源主要包括燃料燃烧、交通运输、烹调的油烟、建筑和装饰用的油漆、涂料和胶粘剂、清洁剂等。目前一些国内外生殖中心已对胚胎培养室的VOC含量进行评估。IVF-ET实验室在选址上要尽量避免靠近马路、加油站、餐馆、锅炉烟囱、化工厂等地段。

(2) 放射性物质: 应远离医疗放射性科室及可能有放射性污染的研究所。

(3) 粉尘: 粉尘可以在空气中随气流漂浮,是各种微生物的载体,空气中的粉尘越多,越容易造成培养过程中的微生物生长,因此要避免扬尘,粉尘严重的地段,比如建筑工地、水泥厂、砖瓦厂等。

(4) 生物污染: 尽量远离传染病科室。远离可能吸引和滋生传播细菌和病毒的昆虫(比如蟑螂、蚊虫)的场所,例如餐馆、食堂等。

但是,由于客观条件的限制,没有办法避免以上各种情况的发生,就需要我们因地制宜,想办法将可能存在的危害降至最低,并且在实验室

的设置上加以注意。这些我们都将在下一部分内容中详细阐述。

二、IVF-ET 实验室的设置及洁净要求

(一) 面积

按照 2003 年原卫生部发布的《人类辅助生殖技术规范》中的规定,取卵手术室使用面积不小于 25 平方米,胚胎移植室不小于 15 平方米,体外受精实验室不小于 30 平方米,精液处理室不小于 10 平方米。取精室使用面积不小于 5 平方米^[4]。

(二) 实验室及手术室的设置

1. 功能室(区)的划分

(1) IVF 手术室: IVF 手术室主要包括取卵手术室和移植室。取卵手术室主要用于取卵手术,与实验室毗邻,中间以传递窗相通,也可同时有门相通,取卵手术如需麻醉应另外设有麻醉恢复室(区)。移植手术室主要用于胚胎移植,根据移植操作习惯的不同,与实验室之间可以设置门或传递窗,以便在胚胎移植时移植医师和实验室人员之间传递载有胚胎的移植管和详细核对胚胎及患者信息。

(2) IVF-ET 实验室:可根据实验室的功能,设立胚胎培养室、精液处理室等实验室。胚胎培养室是最主要的功能室,主要用于找卵、体外受精、原核检查、胚胎形态评估、卵母细胞胞质内单精子注射(intracytoplasmic sperm injection, ICSI)等大部分配子和胚胎的操作。精液处理室主要用于处理精液。如有条件可根据功能划分成更细致的功能室,也可将培养室划分成不同功能区。功能室(区)的划分应注意尽量避免人员设备过分密集,造成人员过分密集、穿插流动,导致工作时互相干扰或发生碰撞。

(3) 实验室的相关辅房:主要包括取精室、试剂库、耗材库、冷冻室、胚胎库以及气体汇流排间等。

取精室与精液处理室相邻,中间以传递窗相连,应配有对讲系统或专线电话,便于患者与护士及实验室人员进行沟通。

试剂库及耗材库用于存放试剂及耗材。

冷冻室主要用于冷冻胚胎,也可用于冷冻卵母细胞及精子等。

胚胎库是存放冷冻的胚胎、卵母细胞、精液等的场所,当中心运行一段时间后,库存的冷冻胚胎需要较大空间储存,建议预留储存库空间。

汇流排间用于存放气瓶并设有气体输出的管道,为手术室和实验室输送高纯度的 CO₂、N₂ 等专用气体。在安装气体管道时应考虑到手术室和实验室的不同要求,由于 CO₂ 培养箱需要的气体压强一般在 0.1~0.15 兆帕,故通往实验室的管道分支需安装减压装置。气体管道通常有通往各个实验室的支路,在每条支路上串联终端设备。考虑到管道有可能漏气或需要维修,建议在分支处安装阀门,如果一旦管道漏气需要维修,比较容易排查漏气点,而且在维修时只关闭一条支路的供气即可,不会影响其他支路的气体供应。

2. IVF-ET 实验室及手术室的布局 在考虑 IVF 手术室及实验室的布局时,应从工作流程出发,在满足我国原卫生部的相关规定的同时,尽量通过科学合理的布局,保证工作的高效性和安全性,优化工作流程。具体原则和注意事项是在布局时,尽量缩短配子和胚胎需要移动的距离;减少人员在工作中的穿插走动。从空间布局上区分开工作人员和患者的活动区域,有利于减少人员活动影响手术室和培养室环境的洁净度,避免工作人员之间不必要的相互干扰,保持实验室人员有安静和注意力集中的工作状态,杜绝差错。下面以北京大学第三医院生殖医学中心 2008 年建成的 IVF-ET 实验室及手术室为例进行详细的说明。

北京大学第三医院生殖医学中心每天要实施的手术包括上午开始的取卵手术(分两台同时进行)、移植手术。取卵手术结束后还有 B 超下减胎术等。在同一手术净化区内另设有一间妇科标准手术室,主要实施与辅助生育相关的内镜手术。按照 2011—2012 年实际完成的全年平均工作量来计算,每天进入 IVF 手术净化区里的病人为 70~80 人(取卵和移植手术为主),每天在手术室和实验室区域活动的工作人员约 30 人,如何使这么多人有条不紊地顺利运行,而又不相互干扰,是摆在我们面前的一个重要问题。所以从

手术室及实验室的布局设计上一定要有效地将各类人群进行分流,既可以提高工作效率,又可以避免相互干扰。为此,在原有净化手术区设计布局的基础上,在日常工作中我们又专门设计了各类人员的分流路线,如图 1-1 所示。

如图所示,红色箭头表示的是医护人员出入的路径,活动区域仅限于各手术室;黄色箭头代

表实验室工作人员的出入路径,活动区域仅限于实验室,绿色箭头代表取卵患者的出入路径,而蓝色箭头则代表移植患者的出入路径,褐色箭头为内镜手术患者进出路径。这样就有效地实现了人员的分流。

实验室的布局也遵循以上原则,尽量根据工作流程及岗位将人员活动限制在特定区域内,避

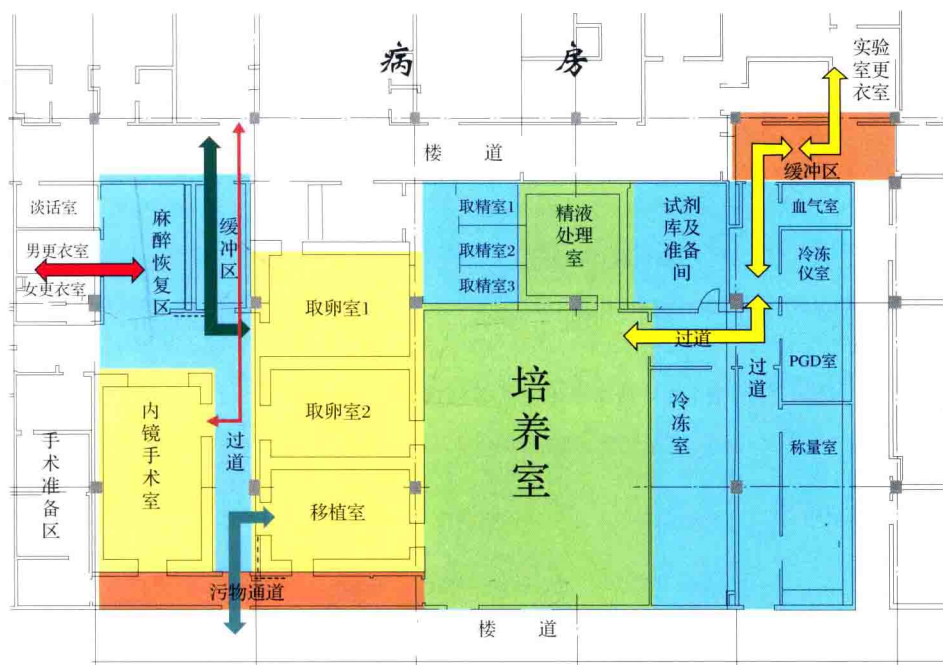


图 1-1 北京大学第三医院生殖医学中心 IVF-ET 实验室及手术室人员分流图

免交叉及碰撞,同时要尽量缩短配子和胚胎需要移动的距离。在实验室的日常工作中,与其他工作交叉较少、相对独立的操作是精液处理和胚胎冷冻,可以设立单独的精液处理室和冷冻室。特别值得一提的是玻璃化冷冻,需要将液氮放置在离操作人员较近的位置。而液氮会大量转变为氮气,影响到培养室内空气质量,亦可造成缺氧等情况。液氮来自于压缩的空气,目前,我们很难购买到净化处理后的液氮,因此液氮蒸发可能会将液氮中的一些尘粒带入胚胎实验室,不利于实验室洁净度的保持。所以基于以上考虑,建议设置单独的胚胎冷冻室用于玻璃化冷冻。而其他工作流程,例如取卵、授精、受精情况的检查、胚胎移植等联系较为紧密,为了不长距离地转移卵母细胞及胚胎,建议安排在同一间实验室内。

(三) 实验室和手术室的洁净要求

1. 洁净区及洁净室的概念及分级 依照《中华人民共和国国家标准洁净厂房设计规范》^[5],洁净区(cleanzone)的定义为空气悬浮粒子浓度受控的限定空间。它的建造和使用应减少空间内流入、产生及滞留的粒子。空间内其他有关参数,如温度、湿度、压力等按要求进行控制。洁净区可以是开放式或封闭式。洁净室(clean room)的定义为空气悬浮粒子浓度受控的房间。它的建造和使用应减少室内诱人、产生及滞留的粒子。室内其他有关参数如温度、湿度、压力等按要求进行控制。实验室及手术室的设置应满足空气洁净度(cleanliness,即以单位体积空气某粒径粒子的数量来区分的洁净程度)等级要求。

空气洁净度被划分为四个等级,如表 1-1 所示。

2. 实验室和手术室的洁净要求 手术室和实验室应设置在洁净区内,相关辅房可根据其功能设置,例如目前多数生殖医学中心均把精液采集室设置在洁净区内,而试剂库、耗材库、胚胎库和汇流排间可以设置在非洁净区内。按照原卫生部 2003 年发布的《人类辅助生殖技术规范》中

的规定,取卵室手术环境符合卫生部医疗场所Ⅱ类标准,体外受精实验室环境符合卫生部医疗场所Ⅰ类标准,建议设置空气净化层流室。胚胎操作区必须达到百级标准。胚胎移植室环境符合卫生部医疗场所Ⅱ类标准。根据《医院洁净手术部建筑技术规范》^[6]的规定,洁净手术室及洁净辅助用房的等级标准如表 1-2、表 1-3 所示。

表1-1 空气洁净度表

等级	每立方米(每升)空气中 $\geq 0.5\mu\text{m}$ 尘粒数	每立方米(每升)空气中 $\geq 5\mu\text{m}$ 尘粒数
100级	$\leq 35 \times 100 (3.5)$	
1000级	$\leq 35 \times 1000 (35)$	$\leq 250 (0.25)$
10 000级	$\leq 35 \times 10\,000 (350)$	$\leq 2500 (2.5)$
100 000级	$\leq 35 \times 100\,000 (3500)$	$\leq 5000 (25)$

注:对于空气洁净度为100级的洁净室内 $\geq 5\mu\text{m}$ 尘粒的计数,应进行多次采样,当检测结果稳定一致时,方可认为该测试数值是可靠的

表1-2 洁净手术室的等级标准(空态或静态)

等级	手术室名称	沉降法(浮游法)细菌最大平均浓度		表面最大染菌密度 (个/ cm^2)	空气洁净度级别	
		手术区	周边区		手术区	周边区
I	特别洁净手术室	0.2个/30min· $\phi 90$ 皿(5个/ m^3)	0.4个/30min· $\phi 90$ 皿(10个/ m^3)	5	100级	1000级
II	标准洁净手术室	0.75个/30min· $\phi 90$ 皿(25个/ m^3)	1.5个/30min· $\phi 90$ 皿(50个/ m^3)	5	1000级	10 000级
III	一般洁净手术室	2个/30min· $\phi 90$ 皿(75个/ m^3)	4个/30min· $\phi 90$ 皿(150个/ m^3)	5	10 000级	100 000级
IV	准洁净手术室	5个/30min· $\phi 90$ 皿(175个/ m^3)		5	300 000级	

注:①浮游法的细菌最大平均浓度采用括号内数值。细菌浓度是直接所测的结果,不是沉降法和浮游法互相换算的结果。②Ⅰ级眼科专用手术室周边区按10 000级要求。③沉降法细菌浓度:用直径90mm的培养皿在空气中暴露30min,盖好培养皿后经过培养得出菌落数,代表空气中可以沉降下来的细菌数,单位为个/皿。④浮游法细菌浓度:在空气中随机采样,对采样培养基经过培养得出的菌落数,代表空气中浮游菌数,单位为个/ m^3 。⑤表面染菌密度:用特定方法擦拭表面并按要求培养后得出的菌落数,单位为个/ cm^2

表1-3 洁净辅助用房的等级标准(空态或静态)

等级	沉降法(浮游法)细菌最大平均浓度	表面最大染菌密度(个/ cm^2)	空气洁净度级别
I	局部:0.2个/30min· $\phi 90$ 皿(5个/ m^3) 其他区域:0.4个/30min· $\phi 90$ 皿(10个/ m^3)	5	局部100级, 其他区域1000级
II	1.5个/30min· $\phi 90$ 皿(50个/ m^3)	5	10 000级
III	4个/30min· $\phi 90$ 皿(150个/ m^3)	5	100 000级
IV	5个/30min· $\phi 90$ 皿(175个/ m^3)	5	300 000级

注:浮游法的细菌最大平均浓度采用括号内数值。细菌浓度是直接所测的结果,不是沉降法和浮游法互相换算的结果

简言之,目前各生殖医学中心均依照原卫生部的规定将 IVF 的主要手术室(取卵手术室、移植室)及实验室(胚胎培养室、精液处理室、冷冻室等)设置成万级层流,配子及胚胎的操作则在百级层流的洁净工作台内完成。取精室则设置为十万级层流。而实验室的一些辅房如试剂库、耗材库、胚胎库及汇流排间则可以设置在非洁净区内。相互连通的不同洁净度级别的洁净室之间,洁净度高的用房应对洁净度低的用房保持相对正压。最大静压差不应大于 30Pa,不应因压差而产生哨音。相互连通的相同洁净度级别的洁净室之间,应按要求或按保持由内向外的气流方向,在两室之间保持略大于 0 的压差,比如培养

室与取卵手术室及移植室毗邻,之间有传递窗或门相通,为保证胚胎培养室内的洁净度,培养室内需正压,使气流从培养室流向手术室。洁净区对与其相通的非洁净区应保持不小于 10Pa 的正压^[6]。

3. 层流设备的设置实例解析 IVF-ET 实验室的洁净度是依靠层流设备实现的,通常在安装层流设备时要寻找有经验的厂家来安装,在层流的设置安排上与自己中心的操作流程结合,合理布局 and 安排。下面以北京大学第三医院生殖中心为例,进行详细阐述。实验室手术室平面布局及风向如图 1-2 所示。

图 1-2 中彩色部分在洁净区内,黄色部分是

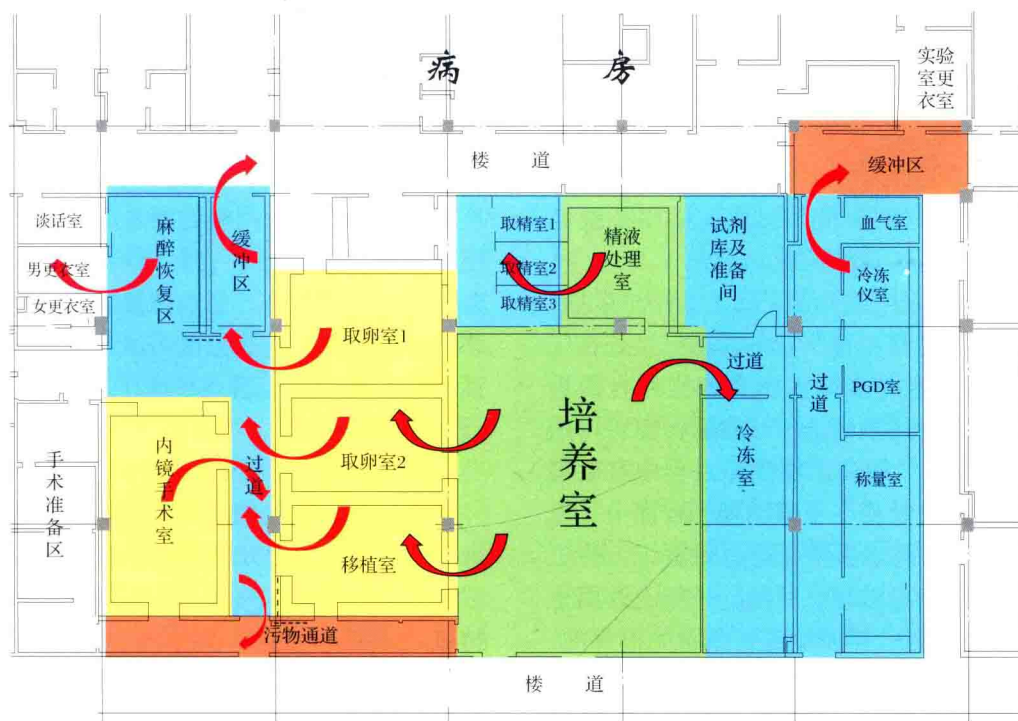


图 1-2 实验室手术室平面布局及风向图

手术室,为万级层流标准;绿色部分是培养室和精液处理室,也是万级层流;蓝色部分是辅房及过道,为十万级层流,而浅褐色部分是缓冲区及污物通道,为三十万级层流。红色箭头指向就是风的流向。从箭头指向可看出,培养室虽与手术室同为万级层流,却处于正压状态,有效避免了手术室术前消毒用的、对胚胎有害的消毒剂(如乙醇、聚维酮碘等)向实验室的逸散。同时,减

少取卵或内镜手术潜在的、患者来源的污染对胚胎实验室的影响。保持实验室的正压,有效降低了来自于手术室的微生物污染的风险。

另外,除了依靠控制风量制造出所需要的压差,实现控制风的流向、避免交叉感染外,从层流的基本设计出发,整个层流系统由三个机组组成:培养室和精液处理室是一个机组,手术室是一个机组,辅房和过道是另一个机组,每个机组