

全国辅助生殖技术规范培训教材



辅助生殖实验室技术

主 编 黄国宁



Assisted Reproductive Techniques



人民卫生出版社
PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE



全国辅助生殖技术规范培训教材

辅助生殖实验室技术

主 编 黄国宁

副主编 孙莹璞 孙海翔 刘 平 徐艳文

编 委 (按姓氏笔画排序)

刘 平 孙正怡 孙莹璞 孙海翔 李豫峰
林 戈 金 帆 徐艳文 黄元华 黄国宁



人民卫生出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

辅助生殖实验室技术 / 黄国宁主编 . — 北京 : 人民卫生出版社, 2014

全国辅助生殖技术规范培训教材

ISBN 978-7-117-18648-3

I. ①辅… II. ①黄… III. ①试管婴儿 - 技术培训 - 教材 IV. ①R321-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2014) 第 017105 号

人卫社官网	www.pmph.com	出版物查询, 在线购书
人卫医学网	www.ipmph.com	医学考试辅导, 医学数据库服务, 医学教育资源, 大众健康资讯

版权所有, 侵权必究!

辅助生殖实验室技术

主 编: 黄国宁

出版发行: 人民卫生出版社 (中继线 010-59780011)

地 址: 北京市朝阳区潘家园南里 19 号

邮 编: 100021

E - mail: pmph@pmph.com

购书热线: 010-59787592 010-59787584 010-65264830

印 刷: 北京铭成印刷有限公司

经 销: 新华书店

开 本: 787 × 1092 1/16 印张: 17 插页: 1

字 数: 424 千字

版 次: 2014 年 2 月第 1 版 2014 年 2 月第 1 版第 1 次印刷

标准书号: ISBN 978-7-117-18648-3/R · 18649

定 价: 119.00 元

打击盗版举报电话: 010-59787491 E-mail: WQ@pmph.com

(凡属印装质量问题请与本社市场营销中心联系退换)

“全国辅助生殖技术规范培训教材” 教材建设专家评审委员会名单

顾 问：卢光琇 庄广伦

主任委员：周灿权 乔 杰

副主任委员：于修成 陈子江 黄国宁 黄荷凤 孙莹璞

委 员（按姓氏笔画排序）：

文任乾 冯 云 曲文玉 朱桂金 全 松 刘 平

刘嘉茵 孙海翔 李尚为 何方方 沙家豪 张云山

张学红 陈振文 范立青 周从容 姚元庆 徐艳文

黄元华 黄学峰 曹云霞

秘 书：曲春晓 刘东云

序 一

1978年,Edwards和Step toe合作结出了全球首例试管婴儿在英国诞生的硕果;1988年,在张丽珠教授带领的北京大学附属第三医院成功诞生了我国首例试管婴儿,相比全球首例,我们晚了10年;1992年,应用单精子卵胞浆注射技术的全球首例第二代试管婴儿诞生于比利时,1996年,中国首例第二代试管婴儿诞生于广州中山医科大学附属第一医院,这一次,我们只晚了4年;2000年,应用种植前遗传学诊断技术的中国首例第三代试管婴儿在广州中山大学附属第一医院顺利降生。至此,辅助生殖核心技术在中国已得到了全面实践。我国辅助生殖技术发展迅速,从无到有,从落后到接轨,进而赶超。1992年全国从南至北有不足5家生殖中心,到1998年迅猛增至170家,至目前则达350余家。每年完成IVF/ICSI周期数不下20万,临床妊娠率达到40%~50%。如此庞大数量,足以号称“试管婴儿”大国。

今天,数以万计不孕不育夫妇借助辅助生殖技术获得子代,完满家庭。辅助生殖技术成为了医疗常规应用,受到广大人民群众信赖,它靠的是什么?是安全、高效;是重视科学发展与监督管理。辅助生殖技术是新兴的生命科学,比其他学科更重视生命伦理道德、法律行为,更加人性化,专注患者最大利益。全国辅助生殖同仁一路前行,一批优秀的中青年辅助生殖专家成长起来。2010年,中华医学会生殖医学分会设立伦理与管理学组、临床学组、人类精子库管理学组和实验室学组,以更好地细化技术的常规学习与管理。辅助生殖技术从最初的探索实践,如今已成为重要的专科。这26年间,辅助生殖技术从业人员数量呈级数增长,越来越多新增生殖中心、年轻医师需要接受培训。

因此,人民卫生出版社联合中华医学会生殖医学分会,邀请全国优秀辅助生殖专家、教授,领衔编写了这套全国辅助生殖技术规范化培训教材。本套教材包括五册,分别是《辅助生殖临床技术》、《辅助生殖实验室技术》、《辅助生殖男性技术》、《辅助生殖护理技术》、《辅助生殖的伦理与管理》,全套教材强调基础理论、基本知识、基本技能,编写体现思想性、科学性、先进性、启发性、适用性,供进入生殖专业学习的研究生、进修医生和生殖专业低年资医师培训使用。

本套教材从我国的实情出发,结合已形成的行业准则与规范,反映了我国近26年来辅



助生殖技术的发展,对我国辅助生殖技术的专科发展必将做出里程碑式的贡献。我谨对本书的著者及编辑者致以深切的谢意,希望它能对我国辅助生殖技术的进一步规范化发展发挥重要作用,培养出更多更卓越的生殖专科医师。

作为本套教材的顾问,看到我曾经的同事及学生将我们多年来探索的经验如此简练规范地总结,心中的成就感丝毫不逊于编著者。特作序以推荐介绍。

庄广伦

二〇一四年一月十六日

序 二

“理想的书籍，是智慧的钥匙”。回顾 30 多年来从事人类辅助生殖技术的经历，我对此感触非常深刻。

作为国内第一批从事人类辅助生殖技术的探索者，我感受到人类辅助生殖技术的每一个前进的脚步都充满艰辛。而如果没有权威的书籍作为专业指导，人类辅助生殖技术的发展不但缓慢，更会盲目无序。回顾起来，自 1978 年第一例试管婴儿在英国诞生不久，我们即开始了人类辅助生殖技术的研究。那时，文革刚结束，国内对于辅助生殖技术一片空白。我们要开展相关研究，连相关的书籍、相关的文献也无法找到。20 世纪 80 年代我到美国耶鲁大学去学习体外受精技术时，我不但向老师们学习操作技术，也在图书馆查阅相关的基础知识，这些理论知识对于我们后来试管婴儿的成功起了非常重要的作用。为了向国内同行介绍辅助生殖技术及其进展情况，我国生殖医学的开创者卢惠霖教授 1980 年着手《人类生殖与生殖工程》一书的写作，他多方收集资料，1986 年，融合了我们自己实践经验的著作《人类生殖与生殖工程》正式出版，这本书得到许多同行的肯定，让我感觉到一本好书，对于一项科研与临床工作的开展，确实能起到巨大的指导与推动作用。

20 世纪 90 年代以来，各地的生殖中心如雨后春笋般出现，曾一度出现了一些混乱无序的发展状况。针对这一现象，原卫生部 2001 年及时颁布了《人类辅助生殖技术管理办法》和《人类精子库管理办法》，及相关的实施细则，在卫生行政部门的强力介入下，我国的辅助生殖技术步入了规范发展的轨道。随后，成立了中华医学会生殖医学分会。通过学会的组织，将国内的生殖医学同仁组成了一个大家庭。各种生殖技术培训班的举办，一大批辅助生殖技术领域的专业书籍相继出版，大大推动了国内辅助生殖技术的发展。

进入新世纪的 10 多年，是人类辅助生殖技术的迅猛发展期，也是国内辅助生殖技术水平与国际接轨的时期。中国人类辅助生殖技术的提高与规范化管理，与原卫生部及各省市卫生厅、中华医学会、中华医学会生殖医学分会多年来坚持不懈的努力是分不开的，也是国内一大批生殖医学专家长期不懈地传授经验、推广新技术的结果。2009 年，原卫生部、中华医学会组织专家们编写的“临床操作规范丛书”和“临床诊疗指南丛书”中的《辅助生殖技术与精子库分册》，作为我国第一部辅助生殖技术与精子库技术的操作规范与诊疗指南，对



于规范各级各类从业或管理人员、单位的医疗及工作行为起了相当大的作用,并成为了为广大不孕症家庭提供优质生殖服务的主要参考书籍。

迄今,近5年时间过去了,辅助生殖技术又进入了新的发展时期,原有的技术不断完善,新的技术不断产生,诸如囊胚培养、单囊胚移植、全基因组筛查、全基因组测序等原来比较陌生的新技术将逐步成为辅助生殖技术领域的主流技术。而同时,辅助生殖技术治疗深入人心,越来越多的不孕症夫妇需求最新的辅助生殖技术成果进行助孕治疗。我国的生殖医学中心在不断地发展壮大,各中心的水平之间还存在相当程度的差距,如何迅速缩短差距、提高全国生殖中心的诊疗水平成为迫切的需要。这需要我们更新思想、更新知识,因此,在原有的基础上,编著本套“全国辅助生殖技术规范培训教材”非常有必要。经过一年多的努力,全国优秀的生殖医学专家们在中华医学会生殖医学分会的组织下,在人民卫生出版社的支持下,编写完成了一整套的辅助生殖技术规范培训教材。我读了以后,深感这套教材具有全、新、精、准的特点。全,是这套书包括了5个分册,基本包括了辅助生殖技术的全部内容;新,是这套教材反映了最新的科研成果;精和准,是这套教材文字精练而内容准确,确实可以作为开展辅助生殖技术规范培训的教材使用。

作为本套教材的顾问,我见证了这套书的筹备与如期完成,对于各位专家在百忙之中,能如此一丝不苟地写作、不遗余力地推广,也感到十分欣慰。因此,我十分乐意为此书作序,我相信这套书是辅助生殖技术规范培训的理想教材。建议从事辅助生殖技术领域的医务人员,包括那些辅助生殖技术领域的初入门者,以及在这一领域工作了几十年的专家们,都认真阅读这套书籍,为提高我国辅助生殖技术诊疗水平,更好地为广大患者服务做出新的贡献。

卢光琇

二〇一四年一月二十四日

序 三

“合抱之木，生于毫末；九尺之台，起于垒土。”我们深感先贤的意味深长。

在我们脚踏的这片神奇的土地，在我们遨游的这个辉煌的时空，奇迹常常悄然而至。尽管它曾是舶来之物，但在历经 35 载的辛勤培育后，我国以辅助生殖技术为重要内容的生殖医学已在不经意间成为合抱之木而屹立于世界之林。记得在一次国际研讨会中，一位资深的国际学者由衷地感叹道：中国究竟发生了什么！他惊讶于我们的辅助生殖技术那令人难以置信的临床成功率。只要比对严肃刊物里的中外数据，谁都会深以为然。其实，这位学者所言只是豹之一斑，君不见近年来我国生殖医学相关领域里雨后春笋般的原创成果？它们已汇聚成强大的推动力，促进了中国辅助生殖技术的不断发展。遥想 30 多年前，我国生殖医学的开拓者们掬起一株幼芽，在这片当时生殖医学还十分贫瘠的土地上不辞辛劳、精耕细作。张丽珠、庄广伦、卢光琇……一个一个熠熠生辉的名字将永远镌刻在中国生殖医学的历史丰碑上。我国的人类辅助生殖技术历经曲折的发展过程，目前已日臻成熟，形成了较为完整的涵盖基础理论、科学研究、临床应用及其管理的综合体系。站在巨人肩膀上，回首曲折道路时，每一个为之洒过汗水的人，都会油然而生无比的欣慰和自豪！其实，我们真是幸福的，因为我们拥抱了生殖医学；但我们也会因此而“痛苦”，因为我们从来没有歇止过为之不断完美的追求，因为我们以构筑这座瑰丽的巅峰为穷己一生的事业。生殖医学人唯有怀揣信念，一路前行。

众所周知，与总人口规模相应，中国育龄人口基数庞大，有资料提示不孕症发病率较高，需求推动辅助生殖技术经过了一个高速发展的阶段，辅助生殖技术的服务范围得到大幅度的拓宽。目前，全国每年完成数十万个辅助生殖技术治疗周期。诚然，至少在很多地区这似乎仍然不能完全满足患者对技术的需求。可以预期，发展的趋势仍将继续。高速发展产生的不平衡以及水平的参差不齐与继续发展的需求的叠加，令辅助生殖技术的人才培养和专业人员技术水平的提高凸显为亟待解决的问题，但是它又是整个技术体系进一步完善和有序发展的重要基础。我们更期盼这个领域上瓜瓞绵绵，人才辈出，引领我国生殖医学在整体上赶上乃至超越国际水平。诚如九尺之台，起于垒土，基础培训在这一过程中殊为关键！

虽然我国已经出版了一些生殖医学或辅助生殖技术相关的专著，但真正瞄向基础培训



的优秀教材少见。有鉴于此,在国家卫生和计划生育委员会(前卫生部)的大力支持下,人民卫生出版社联合中华医学会生殖医学分会,从2011年即开始策划出版一套适用教材,旨在凝练生殖医学领域的新理念,指导辅助生殖技术的实践,夯实从业人员的基本理论、基础知识和基本技能,为我国生殖医学的整体发展奠定实质性的基础。出版社和中华医学会生殖医学分会及其四个学组集中了我国生殖医学领域富有理论知识、实践和教学经验的专家,大家通力合作,在编写过程中投入了极大的热情与辛劳,使本套丛书得以与读者见面。编者希望展现一个全面的技术系统,力求体现辅助生殖的基础、临床、操作常规、技术管理以及生殖医学特有的诊治理念,注重教材的科学性、实用性,为辅助生殖技术的应用提供直接的参考。希望这套丛书对于包括生殖医学专业研究生、生殖医学进修医生、生殖医学相关从业人员在内的读者的尽快成长带来实质性的帮助。

任何专业著述的付梓,都伴随着一路探索的艰辛和几许成功的喜悦,它是集体才智的结晶和团队协作的成果。尽管如此,遗珠之憾和点据之失乃至局限性在所难免,希冀各方读者不吝赐教并予以指正。

谨向为本丛书做出辛勤贡献的业内同仁,向鼎力支持的编辑、出版单位以及关注本丛书的每一位读者一并致谢!

中华医学会第二届生殖医学分会主任委员 周灿权

中华医学会第三届生殖医学分会主任委员 乔 杰

二〇一四年一月十六日

前言

《辅助生殖实验室技术》作为辅助生殖技术规范化培训教材之一,是以国家卫生和计划生育委员会(原卫生部)辅助生殖相关技术规范的基本内容为宗旨,以教育部、卫生和计划生育委员会《关于实施卓越医生教育培养计划的意见》文件为指导思想,以辅助生殖技术近十年来的技术进步和专家共识为基础,在中华医学会生殖医学分会实验室学组的组织下编写完成的。本书不仅可以作为辅助生殖临床胚胎学技术人员、生殖专业低年资医师、进修医生、研究生以及生殖护理人员的培训教材,同时也可作为卫生行政管理人员的参考教材。

本书对 IVF 实验室设计建设、各种设备的使用和管理以及 IVF 实验室所涉及的各项技术和操作都进行了详细的阐述。同时密切结合国内外生殖医学实验室技术的发展,系统地进行了归纳、整合以及凝练。在编写过程中坚持以基本理论、基本知识以及基本技能为主导,着重突出培训教材的思想性、科学性和实用性。由于在辅助生殖培训基地近七年的发展过程中,一直缺乏相关教材,也为本书的编写带来挑战。因此本书的每个章节甚至每个字句都是经过各位编者及编写小组的细致斟酌精炼而成。

为了体现培训教材知识的广泛性和适用性,以及提高培训教材的知识水平,本书的所有编者均在辅助生殖领域有着丰富的临床胚胎学理论知识和经验,且长期在临床与教学一线工作。本书的编写汇集了各位编者的辛勤劳动,在此谨表示诚挚谢意。

在编写过程中,所有编委都竭尽所能,尽力使本书的内容准确无误。尽管愿望如此,但还会存在不足之处,殷切希望广大师生及各位同道给予指正。

主编 黄国宁

二〇一四年一月十六日

目 录

第一章	IVF实验室的建立	1
第一节	IVF实验室的设计	1
第二节	IVF实验室主要设备与耗材	4
第三节	IVF实验室的质量控制与管理	13
第四节	IVF实验室风险及风险管理	18
第五节	IVF实验室事故的处理流程	21
第二章	配子和胚胎的发生	24
第一节	配子的生成与发生	25
第二节	受精生理	39
第三节	着床前胚胎发育	46
第三章	卵母细胞的收集与处理	54
第一节	卵冠丘复合物的收集和评估	54
第二节	卵母细胞脱颗粒细胞	57
第四章	精子的收集与处理	59
第一节	正常精液的收集	59
第二节	处理前后精子的评估与精子优选	61
第三节	精子标本的冷冻	64
第五章	胚胎体外受精	70
第一节	概述	70
第二节	常规体外受精	72
第三节	卵胞质内单精子注射技术	75
第四节	受精的评估	83
第五节	异常受精	84
第六节	低受精与不受精的处理	87
第六章	胚胎体外培养	93
第一节	胚胎培养液	93



第二节	气体环境	101
第三节	矿物油	103
第四节	时差成像动态观察系统	104
第五节	体外培养体系新进展	105
第七章 植入前胚胎潜能评估与胚胎移植.....		108
第一节	原核期胚胎评估	108
第二节	分裂期胚胎评估	120
第三节	囊胚评分	129
第四节	动态评估系统	135
第五节	代谢评估	139
第六节	移植胚胎的选择	145
第七节	胚胎移植	149
第八章 未成熟卵母细胞的体外培养成熟.....		155
第一节	体内卵母细胞的成熟过程和机制	155
第二节	未成熟卵母细胞体外成熟	158
第三节	IVM适应证与步骤	160
第四节	IVM成功的影响因素和安全性	163
第九章 辅助孵化.....		167
第一节	透明带功能	167
第二节	辅助孵化的适应证	168
第三节	辅助孵化的方法	169
第十章 配子与胚胎的冷冻与解冻.....		175
第一节	低温生物学的原理	175
第二节	配子与胚胎的程序化冷冻技术	185
第三节	配子与胚胎的玻璃化冷冻技术	190
第四节	生殖能力储备	198
第十一章 胚胎植入前遗传学诊断与筛查.....		204
第一节	胚胎植入前遗传学诊断与筛查的基本原理与适应证	204
第二节	胚胎植入前遗传学诊断活检取材	208
第三节	胚胎植入前遗传学诊断的诊断技术	213
第四节	胚胎植入前遗传学诊断的安全性问题与展望	234
复习思考题参考答案.....		240
中英文名词对照索引.....		251



剂量时,可导致鼠胚胎的发育停滞。理论上,植入前胚胎体外更容易受到伤害,尤其是在 IVF-ET 过程中,配子/胚胎失去输卵管/子宫环境的保护,胚胎抗御外界刺激完全靠自身固有的能力,当外界刺激超出了胚胎自身的平衡能力就会导致胚胎的异常代谢,甚至表观遗传学的变化,影响胚胎的发育潜能。越来越多的文献显示,空气质量下降与 IVF-ET 妊娠率下降有一定的相关性。一个回顾性的分析显示,IVF 实验室周围有施工建筑物,空气中细小颗粒物(尘埃)的增加与 IVF 妊娠率降低有关,也有文献报道 NO_2 的浓度增加与降低活产率有关。因此 IVF 实验室位置选择要考虑周围环境的空气质量,远离污染严重的工厂、建筑工地等场所。了解实验室附近未来几年或十几年有无重大工程,如改建等建设规划是很重要的。尽管这些建设规划很难预测和控制,我们仍建议实验室建立前,应和相关部门,如城市规划工作者有良好的沟通,以了解实验室所在区域的或是街道的总体发展方向。

从院内环境因素考虑,应尽量避免毗邻手术室、病理科、放射科、传染科、检验科或中心实验室、洗涤室、消毒室、细胞遗传室、分子生物实验室等。这些科室常用的消毒剂、洗涤剂、制片固定、染料等都是挥发性有机化合物(volatile organic compounds, VOC)的来源,若 IVF 实验室邻近这些科室,会导致 IVF 实验室空气净化难度增加。生殖中心主要由临床、IVF 实验室两大部分组成,一般建议独立于院内其他科室。为不增加治疗中患者紧张、焦虑情绪,选址应考虑取卵、胚胎移植术后患者分流的便利性,如邻近电梯,与前述部门分开的候诊区,IVF 实验室通常设置在相对独立、较高的楼层。

二、面积与布局

(一) 面积

IVF 的周期数是决定 IVF 实验室面积的一个重要因素。周期数直接与仪器(如超净工作站、显微镜、操作仪)及技术人员的配置密切相关。IVF 实验室面积要充分考虑未来几年的发展,以便周期数超过最初的实验室设计容量时,进行改建或扩展预留空间。考虑胚胎培养室对新增仪器所摆放的位置,以及所在位置的电路、网络配置等。除培养室外,胚胎冷冻室、液氮储存室、精液制备室等应留有足够的空间以备新增仪器的摆放。

目前,对 IVF 实验室设计是参考国家卫生和计划生育委员会(原卫生部)《人类辅助生殖技术规范》(卫科教发[2003]176号文件)中的规定,即胚胎培养室不小于 30m^2 ,取卵室面积不小于 25m^2 ,胚胎移植室不小于 15m^2 ,精液处理室不小于 10m^2 ,总的实验室专用面积不得小于 260m^2 。按此规定面积要求建立一个实验室,可能只适用于年周期数少的中心,如对年取卵周期数不足 500 的中心;但如开展的周期数超过 1000,就意味着会增加更多的仪器设备,如培养箱、工作站以及技术人员等。此时,较小面积的胚胎培养室将不利于配子/胚胎的安全操作,仪器的密集摆放也会影响整个实验室空气的有效循环。

(二) 布局

IVF 实验室主要包括取卵室、精液制备室、胚胎移植室、胚胎培养室、胚胎冷冻室等,其他辅助功能室如取精室、准备室、风淋室、资料室、储藏室、气瓶室、显微操作室等。不同功能室之间的设计,要方便人员之间的交流,秉承行走路线最短的原则来分布,如取卵室、胚胎移植室和胚胎培养室三者之间布局应以“T”字型为基础构型,即将取卵室、胚胎移植室紧邻胚胎培养室。同时,其他功能室也应以胚胎培养室为中心,按各功能室的职能和彼此的关系分别围绕培养室分布(见文末插页图 1-1)。



(三) 各功能室设计

IVF 实验室中,供胚胎开放操作的实验室为千级净化,其中操作胚胎区局部百级净化;临床手术区域和其他实验区域为万级净化;非操作区域如储备间等为十万级净化。胚胎培养室应有独立的送风系统,取卵室和胚胎移植室共用一个送风系统。储藏室主要用于存放实验室备用的耗材等,如各种规格的培养皿、离心管、移液管、移植管等都会释放大量的 VOC,因此应该建立单独的送风系统,或是有单独的排风系统。

取卵室 / 胚胎移植室:取卵和胚胎移植手术需摆放用于存放麻醉以及呼吸机等急救设备的储物柜。装饰以及室内所使用的储物柜、工作台等应采用医疗或实验专用产品,以减少 VOC 的释放。

胚胎培养室:胚胎体外操作和培养的大环境,其设计和装饰要求都有别于其他功能室。培养箱、超净工作台等摆放,要方便使用,并保证行走距离最短,一个胚胎学家在完成一个完整的操作,移动的距离应不超过 3m。如培养箱可放置在超净工作台两侧,而对于取卵周期数多的中心,培养箱可放置在胚胎培养室中央区域,便于保证操作区域和培养箱之间的距离最短且技术人员操作方便。

显微操作室:紧邻胚胎培养室。地面、墙面使用减震材质,工作台面增加防震装置。

精液处理室:墙面、地面、工作台面材料同上,工作台面的设计应充分考虑离心机造成的震动影响。

胚胎冷冻及冻胚储存室:地面应采用防冻材料,避免液氮溅落损坏,如金属防滑地板。冻胚储存室面积宜大,应有良好的通风应急装置,可在储存室或每液氮罐内加装远程报警系统,防止意外突发而造成不可挽回的损失。

气瓶室:用于存放充满气体(CO_2 或 N_2)的钢瓶,气体经密闭的不锈钢钢管引入实验室内,接口的设置要考虑实验室内培养箱的摆放位置。设计专用的气瓶室可避免频繁更换气瓶带来的室内污染,尤其是采用低氧条件培养时,频繁的 N_2 更换,不仅占用人力,有时也会干扰正常的工作流程。

储备室:如果缺少专门的储存空间,实验室的空间就会被占用,会放满柜子,破坏了实验室原始的设计;其次是新的耗材,包括消毒的材料,长时间释放多种有害化合物,不利于胚胎培养室空气质量的改善。

(四) 实验室装饰与建材选择

建筑或整改装修都会导致一些化合物暂时或长期存在于实验室内。较高浓度的化合物,尤其是对胚胎有毒性的挥发性有机物,会对 IVF 治疗结局造成不利的影响。这些影响可以造成胚胎的发育滞后或形态学异常,受精和种植率降低甚至失败。许多有害物质是来自油漆、地板黏合剂等一般建筑材料以及实验室的设备。由建材带来的空气质量问题,可能不足以引起装饰工人甚至临床医生的重视。但人类配子 / 胚胎对体外培养环境的敏感程度超出了他们的想象,作为一名胚胎学工作者应该十分明确,体内条件才是配子 / 胚胎生长发育的最佳环境,如果诸多外界的不利的因素同时存在,有可能产生的联合作用就会造成胚胎不可逆的损伤,故必须尽可能去控制包括空气质量在内的任何会影响到胚胎体外发育的因素。如此才会减少胚胎在体外受到的侵害,最大限度地维持配子 / 胚胎自身固有的发育潜能。

IVF 实验室装饰时不建议使用任何油漆,不管哪种漆料,都会释放大量 VOC,显著降低空气质量。必要的漆料建筑材料应该在使用前加以处理,并放置足够长的时间。使用漆料建筑材料后,应使用大功率工业电扇进行辅助的通风,并有通往外部的排气管道。黏合胶、



密封剂等材料的危害和油漆一样。实验室内使用的黏合剂、胶、密封剂等材料不应含有甲醛、苯甲醛、苯酚等。必要时,建议使用硅质材料,尤其在密封时使用。

新实验室完成装修可采取适当的措施促进残留在装修材料中的有害物质释放。目前最有效的方法就是提高实验室内的温度和通风率,以加快挥发性有机物的释放和移除。在建筑完成时,调整控温送风系统,将温度控制在 $30 \sim 35^{\circ}\text{C}$,相对湿度小于 40% 的条件下预运行 2~4 周,期间保持实验室关闭。如果温度不能达到,可以使用辅助的电加热来达到温度。切记保持良好的通风是非常关键的。预运行结束后,要对实验室的通风量进行测量,包括各功能室间的压力、送风口的风速。同时检测室内 VOC 和微粒的水平。虽然目前没有明确规定运行新实验室空气质量指标,但尽可能降低 VOC 和微粒的含量,将会有利于胚胎的体外发育。

(五) 其他

1. 管道设计 除了较大的送风、回风管道,IVF 实验室内还涉及一些小的管道,这些管道的设计同样重要。首先是供气管道,是将气瓶室的气体引入 IVF 实验室而铺设的管道,常用不锈钢钢管。气体管道的布置要求便于检修,接口设置要方便使用。随着培养箱种类的不断增多,一些培养箱要求使用预混合气体,必要时应依据设备设置输送 CO_2 、 N_2 和预混合气体等管道,以满足不同的培养箱的供气。气体管道间的接口要保证良好的密封性。备用气瓶间气体阀门可自动转换等。

2. 电路及电器 实验室内所有电路应嵌于墙体内。室内应设有足够的电源插口,尽量避免使用插线板,插座需设置地线。实验室大功率电器较多,充分考虑仪器所需供电负荷,在所有电路中配备断路器和漏电保护器。电路的布置要方便检查和维修。各种电源线及网络线宜穿入管道中统一布线,计算机主机宜统一放置在有通风设备的管井中,墙面留置计算机显示器插口,使用无线外接附件(如键盘、鼠标)。为防止意外断电的影响,应配备自动的应急发电机以备用或对主要仪器(如培养箱、程序冷冻仪、显微操作仪)配置不间断电源(UPS)。

3. 监控设备 冻胚储存室监控:胚胎冷冻室的液氮储存区应设有 24 小时氧气自动报警装置,当大量液氮泄漏时导致低氧状态时报警,也可以在每个存储罐内安装报警模块,当液氮面低于警戒线时,系统就会自动报警,报警系统可自动进入多个电话呼叫系统,及时提醒实验室技术人员进行检查。

CO_2 培养箱监控:培养箱作为胚胎体外生长发育的主要场所,其稳定性直接影响着胚胎的发育潜能。 CO_2 培养箱监控的要点是监控其温湿度及气体浓度,当气体浓度以及温度超出报警限值且在设定的时间内不能自动恢复,报警系统就会自动发出报警提示,有部分培养箱设有远程报警接口,可接入远程报警输出设备,如电话或是短信报警,可以让实验室技术人员不在工作时间范围内也能够了解培养箱的运行情况。

第二节 IVF 实验室主要设备与耗材

IVF 实验室仪器设备是开展治疗的基本保障,设备配置必须满足日常工作需要。主要仪器设备有:培养箱、超净工作台、显微操作仪、显微镜、冷冻仪、液氮罐、冰箱、热板等。仪器的选择不仅要依据工作量而定,还要考虑重要仪器可能出现故障及其所产生的影响,应尽量购买 IVF 专用产品。某些重要仪器如显微操作仪、程序冷冻仪应考虑备用品,以便突发故障



时正常工作不受到影响。

一、实验室主要仪器

(一) 培养箱

培养箱是 IVF 实验室最为关键的仪器之一,主要维持配子 / 胚胎体外生长的酸碱度、温度及相对湿度,有人把它比喻为 IVF 实验室的“心脏”。用于人类体外胚胎培养的 CO_2 培养箱,按加热结构不同分为气套式和水套式加热培养箱,按培养时气体成分控制又可分为高氧(20%)、低氧(5%)培养箱。目前市场可见多种品牌的桌面式培养箱,这些培养箱有的采取干燥环境培养,有的要求使用预混合气体,从文献报道数据可见这些培养箱也可获得良好的培养结果。

1. CO_2 培养箱温度 水套式培养箱优点是当遇到意外断电的时候,温度丢失较慢,能维持箱体内温度较小的波动;气套式与水套式相比,具有加热快,温度的恢复比水套式培养箱迅速,特别有利于短期培养以及需要箱门频繁开关的培养。培养箱温度的精确控制直接关系到培养结果。培养箱不同的隔层,其培养基温度也是有轻微差异的,有学者认为这一差异并不影响胚胎的发育,也有研究认为,不同隔层培养胚胎,其妊娠率结局不同。

2. CO_2 培养箱气体浓度 控制 CO_2 浓度主要是调节培养基的 pH。不同的培养基可能要求 CO_2 的浓度不同,此外 CO_2 的设定还受到所在地的海拔高度的影响。胚胎自身调节 pH 的能力非常有限,培养基的 pH 的波动会对胚胎造成一定的应激,引起细胞内 pH 的变化,而细胞内 pH 的变化会影响酶的活性、膜的转移、蛋白的合成等关键的代谢及细胞的分裂、分化。

在体外培养胚胎时, O_2 浓度一直是研究的热点。最常见的研究数据是用 5% 的 O_2 和 20% 的 O_2 (空气中的 O_2 浓度)的气相下得来的。对动物的研究发现,体内输卵管为低氧状态,即为 2% ~ 8% 的氧浓度。 O_2 在代谢过程中,产生自由基或游离基,而游离基对细胞生长有副作用。基于这些理论,人们建议胚胎生长应该更合适在低氧的环境下。多数的研究认为低氧(5% O_2 浓度)更有利于胚胎的体外发育,尤其是囊胚培养,可以提高囊胚的质量。有人比较 5% O_2 浓度和 20% O_2 浓度对小鼠胚胎发育的影响,研究表明在 4 细胞以前两种氧浓度对胚胎质量无明显影响,但将胚胎在体外进一步培养发现 5% O_2 浓度更有利于囊胚的发育。人类囊胚培养过程中也发现,低氧培养并不能提高囊胚前胚胎移植的妊娠结局,但对囊胚期移植周期,可以提高活产率。延长高氧状态下培养时间,不仅损伤了胚胎的发育潜能,而且较高 O_2 浓度可能与胚胎基因表达异常以及大胎儿综合征有关。但也有学者认为,随着培养基的不断的改进和更新,如在培养基中加入抗氧化物质,这可能平衡了高氧所产生的自由基的影响,因而,从实验结果中看不出低氧和高氧之间的差异。但目前为止,尚无研究结果表明 5% 的低氧培养会影响人类胚胎的体外发育。

3. CO_2 培养箱湿度 多数培养箱的培养条件是饱和湿度,若在开放式培养条件下,培养箱内相对湿度控制非常重要。有些培养箱是在底部放置水盘、通过水蒸发维持饱和湿度,也有些培养箱是靠蒸汽发生器或喷雾器来控制相对湿度水平。合理的培养箱加湿,应该通过高温蒸汽湿化的方式保持培养箱内湿度,且供水设备设置外挂,这样不仅湿度恢复得快,而且每次换水时不需要开启培养箱,避免温度和气体发生变化。目前也有干燥培养箱,要求必须利用矿物油覆盖,也可以获得同样的培养结果,如 K-systems G-185 桌面培养箱,同其他桌面培养箱相似,箱体采取四面加热,且容积非常小,所以温度、气体浓度恢复非常快,不同之