

DOI:10.3969/j.issn.1004-3845.2018.09.003

胚胎实验室关键指标质控专家共识

孙青, 黄国宁, 孙海翔, 范立青, 冯云, 沈浣, 刘平, 卢文红, 张云山, 王秀霞, 张松英, 黄学锋, 伍琼芳, 全松, 周灿权, 周从容, 师娟子, 孙莹璞*, 曾勇*
(中华医学会生殖医学分会第四届委员会)

【摘要】 辅助生殖技术(ART)胚胎实验室涉及的配子及胚胎操作流程多而复杂,如何有效选取并利用关键指标对胚胎实验室进行全面质量管理(TQM)显得尤为关键。因此,中华医学会生殖医学分会制定“胚胎实验室关键指标质控专家共识”,为我国各地辅助生殖中心胚胎实验室对其进行有效的质量管理提供参考。

【关键词】 辅助生殖技术; 关键指标; 质量控制; 共识

CSRM consensus on key indicators for quality control in IVF laboratory

SUN Qing, HUANG Guo-ning, SUN Hai-xiang, FAN Li-qing, FENG Yun, SHEN Huan, LIU Ping, LU Wen-hong, ZHANG Yun-shan, WANG Xiu-xia, ZHANG Song-ying, HUANG Xue-feng, WU Qiong-fang, QUAN Song, ZHOU Can-quan, ZHOU Cong-rong, SHI Juan-zi, SUN Ying-pu*, ZENG Yong*
The Fourth Session of the Committee of Chinese Society of Reproductive Medicine (CSRM)

【Abstract】 The procedures for gamete manipulation and embryo culture in IVF laboratory of assisted reproductive technology (ART) are numerous and complex. It is important for total quality management in IVF laboratory by effectively choosing and utilizing the key indicators. Thus, Chinese Society of Reproductive Medicine drew the consensus to provide reference for the IVF laboratories to establish effective quality control in China.

【Key words】 Assisted reproductive technology; Key indicators; Quality control; Consensus

(*J Reprod Med* 2018,27(9):836-851)

背 景

人类辅助生殖技术(ART)胚胎实验室进行质量控制(简称为“质控”)的目的在于通过政策、制度和文件来控制与规范环境质量、硬件条件、试剂耗材、操作流程、技术水平及人员培训等,以获得稳定及与预期相符的胚胎培养结果,因而其一直是胚胎学家工作的重点。但是,配子收集、受精以及胚胎培养等操作过程复杂、影响因素众多,因此对其进行质控也是难点。临床检验等实验室可以利用控制物进行质控,然而在胚胎实验室中,控制物往往无法获得或不稳定,难以开展控制物质控。利用指标进行质控不仅可以系统地检测和评估胚胎实验室在患者健康治疗管理中的贡献(ISO15189-2012),是质量管理体系(quality management system, QMS)中的重要组成部分^[1-2]。关键指标是对引入实验技术或操作

流程、建立掌握操作的最低标准、监控 QMS 的执行效能[内部质控(internal quality control, IQC)及外部质控(external quality assurance, EQA)]以及设立基准和质量提高的评估具有重要作用的指标。另外,指标的数据都来源于实验中记录的常规数据,所以常规数据的产生及收集过程必须是直接的、可监控的,由此得到的指标才是正确和可信的。只有发展一个强大的、系统的、持续性的信息化数据库统计系统以进行数据收集、分析及计算^[1],才能快捷、全面地监控和分析关键指标,预警并及时发现潜在问题、防止问题大规模爆发,这对维持稳定的胚胎培养效果及持续提高胚胎实验室整体水平有十分重要意义。

* 通讯作者:曾勇(深圳中山泌尿外科医院, Email: zengyong1966@sina.com);孙莹璞(郑州大学第一附属医院, Email: syp2008@vip.sina.com)

不同生殖中心胚胎实验室的临床策略及胚胎培养策略不尽相同,因此关键指标的设置需要符合胚胎实验室自身实验室情况及工作流程。此外,由于胚胎实验室涉及的实验操作过程较多,理论上针对每一个环节都应设置相应指标进行质控。但是如果将所有指标都作为关键指标进行质控,不仅使胚胎学家的工作量和压力倍增,而且大部分指标的目标指向性并不明确,从而导致管理者无法快速地从众多指标中发现异常情况。如何有效选取并利用关键指标对胚胎实验室进行质控非常关键。基于上述原因,在中华医学会生殖医学分会的组织下制定了“胚胎实验室关键指标质控专家共识”,为我国各地辅助

生殖中心胚胎实验室对其临床工作进行有效的质量管理提供参考。

方 法

本专家共识的设计与制定步骤参考 2014 年发布的《世界卫生组织指南制定手册》,及 2016 年中华医学会发布的《CSRM 指南共识的制定规范(2016)》,参考国内外相关规定、共识、指南、书籍以及研究结果,参照 GRADE 方法的证据质量评价(表 1)及推荐强度评级(表 2),结合我国具体情况、临床实践以及编写专家经验,同时广泛征求和参考相关学科专家意见,进而达成专家共识。

表 1 证据质量评价及其定义

证据强度	说 明
高质量(A)	进一步研究也不可能改变该疗效评估结果的可信度
中等质量(B)	进一步研究很可能影响该疗效评估结果的可信度,且可能改变该评估结果
低质量(C)	进一步研究极有可能影响该疗效评估结果的可信度,且该评估结果很可能改变
极低质量(D)	任何疗效评估结果都很不确定

表 2 推荐强度评级及其定义

推荐分级	说 明
强推荐(1)	当明确显示干预措施利大于弊或弊大于利
弱推荐(2)	当利弊不确定或无论质量高低的证据均显示利弊相当时

一、共识发起和支持单位

按照中华医学会共识制定要求,本共识由中华医学会生殖医学分会发起,实验室学组组织和撰写。

二、共识注册与计划书撰写

专家共识已在实践指南注册平台(Global Practice Guidelines Registry Platform, <http://www.guidelines-registry.cn>)国内版进行注册(注册号:IPGRP-2018CN003),读者可联系该注册平台索要计划书。

三、共识范围

该专家共识拟定题目为《胚胎实验室关键指标质控专家共识》。该共识适用于从事辅助生殖技术的医疗机构。共识的使用人群为从事生殖医学的医务工作者(包括临床医师和胚胎学家)。共识的目标是为了提高人类辅助生殖技术胚胎实验室的胚胎培养水平及对其进行高效的质量控制管理以为接受辅助生殖技术治疗患者提供更好的治疗效果,所以共识的目标人群为接受辅助生殖技术治疗的患者。

结 果

第一部分:指标预警及统计分析

有效的数据预警及统计分析管理机制可以帮助胚胎实验室管理者及时发现问题,并将可能的损失降至最低,因此是质量控制管理的重要组成部分。

一、指标质控及预警方案

(一)数据质控目的

便于及早预警胚胎实验室可能出现的异常情况,帮助胚胎实验室管理者及时发现潜在问题,防止问题扩大化;可作为反映胚胎实验室的整体水平、胚胎培养体系的稳定性以及实验操作人员技术水平的评价指标。

(二)管理措施

根据指标的数据时限性及数据统计量大小进行分时段分层次进行监控,主要包括每天、近期动态、月及年质控指标。但是,由于不同生殖中心的周期

数差异较大,难以做到采用统一的指标进行质控管理,建议各中心根据实际周期数进行相应调整。

1. 每天及动态质控:(1)每天:正常受精率、IVF 多 PN 率、1PN 率(IVF 及 ICSI)、卵裂率、D2 胚胎形成率、D3 胚胎形成率以及 D3 优质胚胎率、 β -HCG 阳性率;列示患者胚胎情况明细,对于异常患者特别汇报及讨论。(2)近 3~15 d(每天滚动统计,具体统计天数根据周期数决定):正常受精率、IVF 多 PN 率、1PN 率(IVF 及 ICSI)、ICSI 卵子退化率、卵裂率、D2 胚胎形成率、D3 胚胎形成率、D3 优质胚胎率、D3 可利用胚胎率、囊胚形成率、优质囊胚率及可利用囊胚率。(3)近 5~15 d: β -HCG 阳性率(每天滚动统计,具体统计天数根据周期数决定)。

2. 每月质控指标:正常受精率、IVF 多 PN 率、1PN 率(IVF 及 ICSI)、ICSI 卵子退化率、卵裂率、D2 胚胎形成率、D3 胚胎形成率、D3 优质胚胎率、D3 可利用胚胎率、囊胚形成率、优质囊胚率、可利用囊胚率、复苏胚胎存活率、复苏胚胎完整率、活检成功率、IVF 受精失败率、 β -HCG 阳性率、临床妊娠率、种植率等。

3. 每年质控指标:正常受精率、IVF 多 PN 率、1PN 率(IVF 及 ICSI)、ICSI 卵子退化率、卵裂率、D2 胚胎形成率、D3 胚胎形成率、D3 优质胚胎率、D3 可利用胚胎率、囊胚形成率、优质囊胚率及可利用囊胚率、复苏胚胎存活率、复苏胚胎完整率、活检成功率、IVF 受精失败率、 β -HCG 阳性率、临床妊娠

率、种植率等。

通过不同年份的数据分析比较寻找数据波动的原因,总结上年度新计划、新改动的实施效果等。

(三)指标质控预警方案

质控线的数据来源于特定时间段(如上年度),以该时间段内的统计周期(如每月)数据计算平均值(\bar{x})及标准差(SD),以(平均值 \pm 2 个 SD)作为警戒线,(平均值 \pm 3 个 SD)作为控制线。当数据反方向跨过控制线,或反方向跨过警戒线,或 3 次反方向的连续变化但未跨过警戒线或控制线,或朝有利方向跨过控制线都应启动相应的异常数据分析路径。

二、统计分析管理机制

(一)管理目的

在日常工作出现异常情况、质控指标失控时,对数据进行收集、归纳、统计,分析其原因,为制定解决问题的方案提供准确的信息。

(二)管理措施

1. 建立完善的数据库及规范的数据录入制度;
2. 制定分析问题的程序流程;
3. 建立数据质控小组,明确岗位描述及职责分工,赋予权力。

第二部分:胚胎实验室质控指标

胚胎实验室进行质控的指标可分为关键指标(表 3)及一般指标(表 4)。

表 3 胚胎实验室关键指标

胚胎实验室关键指标	
IVF 正常受精率=(D1 出现 2PN 及 2PB 卵子数)/IVF 加精卵子总数 \times 100%	2C
ICSI 正常受精率=(D1 出现 2PN 及 2PB 卵子数)/注射 MII 卵子总数 \times 100%	
ICSI 卵子退化率=ICSI 退化卵子数/注射 MII 卵子总数 \times 100%	2C
IVF 受精失败率=IVF 受精失败周期数/IVF 治疗周期总数 \times 100%	2C
活检成功率=检测到 DNA 的活检样本数/总活检样本数 \times 100%	2C
复苏存活率=存活卵裂胚或囊胚数/复苏卵裂胚或囊胚总数 \times 100%	2C
复苏完整率=完整卵裂胚数/复苏卵裂胚总数 \times 100%	
卵裂率=D2 卵裂胚胎数/正常受精卵子数 \times 100%	2C
D2 胚胎形成率=D2 4-细胞胚胎数/正常受精卵子数 \times 100%	2C
D3 胚胎形成率=D3 8-细胞胚胎数/正常受精卵子数 \times 100%	
囊胚形成率=(D5/6/总的囊胚数)/正常受精卵子数 \times 100%	2C
β -HCG 阳性率= β -HCG 阳性周期数/(新鲜取卵/新鲜移植/冻融/冻融移植)周期数 \times 100%	2C
种植率=孕囊数/移植(卵裂胚/囊胚)胚胎数 \times 100%	2C
临床妊娠率=临床妊娠周期数/(新鲜取卵/新鲜移植/冻融/冻融移植)周期数 \times 100%	2C

表 4 胚胎实验室一般指标

胚胎实验室一般指标	
IVF 多 PN 率 = >2PN 卵子数 / IVF 加精卵子总数 × 100%	2D
1PN 率 (IVF) = 1PN 卵子数 / IVF 加精卵子总数 × 100%	2D
1PN 率 (ICSI) = 1PN 卵子数 / 注射 MII 卵子总数 × 100%	
优质囊胚形成率 = 优质囊胚数 / 正常受精卵子数 × 100%	2C
优质囊胚比率 = 优质囊胚数 / 囊胚形成数 × 100%	2C
D5 囊胚移植率 = 至少有 1 个由正常受精卵发育而来 D5 可利用囊胚的周期数 / 囊胚培养周期数 × 100%	2C

此外,根据胚胎实验室评估指标的角度不同,我们将胚胎实验室指标分为以下几类:

- I 类:主要指示技术水平的指标,例如正常受精率、ICSI 卵子退化率等;
- II 类:主要指示胚胎质量的指标,例如 D3 胚胎形成率、囊胚形成率等;
- III 类:主要指示结局的指标,例如种植率等。

一、I 类——指示技术水平的指标

(一)受精率及正常受精率

共识建议:建议正常受精率(IVF 及 ICSI)作为胚胎实验室关键指标(2C)。

在体外受精过程中,根据加精后(17±1)h 是否出现原核或未见原核但发生卵裂判断受精结局。临床上将精子与卵子结合后(17±1)h 观察到 2 个原核及 2 个极体定义为正常受精。IVF 受精率 = (D1 出现 2PN 卵子数 + 1PN 卵子数 + 3PN 卵子数 + 0PN 卵裂卵子数) / IVF 加精卵子总数 × 100%^[3]; IVF 正常受精率 = (D1 出现 2PN 及 2PB 卵子数) / IVF 加精卵子总数 × 100%^[4]; ICSI 正常受精率 = (D1 出现 2PN 及 2PB 卵子数) / 注射 MII 卵子总数 × 100%^[4]。

2017 年由欧洲人类生殖及胚胎学会(ESHRE)与生殖医学 Alpha 科学家共同制定的 Vienne 共识^[4](简称“Vienne 共识”)建议正常受精率(IVF 及 ICSI)作为胚胎实验室关键指标;2012 年英国临床胚胎学家协会(ACE)制定的临床胚胎实验室操作指南^[3](简称“ACE 指南”)建议 IVF 受精率及 ICSI 正常受精率作为胚胎实验室关键指标。正常受精率是检验胚胎实验室体外受精效果的重要指标,是用于判断配子操作、卵子和精子质量以及受精体系是否适宜的关键指标。

1. 涉及的常规记录指标:

- 2PN 卵子数、3PN 卵子数、IVF 加精卵子总数、MII 卵数、卵子形态、精液参数(包括活动力、浓度和形态学)、精子碎片、精子遗传学情况。

- 操作人员及操作流程相关指标:a. 原核观察时间点;b. 加精精子总数;c. ICSI 注射针内径大小;d. HCG 注射与取卵(OPU)的间隔时间;e. HCG 注射与授精的间隔时间;f. 剥卵针管径大小;g. 精卵共孵育时间;h. OPU 与 ICSI 的间隔时间;i. 剥除颗粒细胞与 ICSI 的间隔时间;j. 透明质酸酶浓度及处理时间;k. PVP 浓度;l. 精子制动方法;m. 极体位置。

- 培养箱(温湿度、气体浓度)、室内外环境[温湿度、挥发性有机物(VOC)];培养液及试剂耗材(品牌、批号、运输温度、存储温度以及使用有效期)。

- 患者年龄、不孕因素、不孕年限、既往不良治疗史、BMI 及其它不良生活习惯等。

- 特殊病例。

2. 统计周期:为了及时发现异常,建议中心根据周期数在保证足够样本量的基础上,设置相应的近期动态时间(如近 3~15 d)来分析受精率及正常受精率。

3. 异常数据分析路径:当正常受精率异常时,按下列因素进行分析:

- 配子因素:配子因素主要包含卵子因素和精子因素。

- ◇ 卵子因素:在 IVF/ICSI 治疗中,卵子质量是影响受精的最关键因素。卵子成熟度与其受精能力密切相关。ICSI 注射前通过剥除颗粒细胞可以直接观察到卵子的第一极体排出情况,并以 MII 率作为评估卵子成熟度的指标之一,可用于预测 ICSI 正常受精率^[5]。然而,IVF 无法提前预知 MII 率,所

以对 IVF 正常受精率的预测效果较差。如果受精率异常,首先应分析 M II 率是否异常,这是数据异常分析的起点。异常形态的卵子对受精率有不良影响^[6]。若剥除颗粒细胞后发现卵子形态有异常,应及时做好相关记录,用于回顾性分析正常受精率。促排卵效果好坏也会直接影响卵子质量,进而影响整个助孕治疗的临床结局^[7-8],所以若因卵子质量异常影响受精率还需及时联系临床部门共同查找原因。

◇ 精子因素:IVF 正常受精率与精液处理前后的活动力、浓度、形态学等精液参数有一定的相关性^[9]。当 IVF 正常受精率出现异常波动时,从精子因素方面看,精液参数为主要影响因素;对 ICSI 而言,精液参数对其正常受精率的影响较小^[10]。精子 DNA 碎片程度^[11]与正常受精率存在负相关,即精子 DNA 碎片程度越高,正常受精率越低。

• 患者因素:主要包括患者年龄^[12]、不孕因素^[13]、不孕年限、既往不良治疗史、BMI^[14]及其它不良生活习惯等。患者因素有可能通过影响卵子质量或精子质量从而影响正常受精率。当在配子因素中找不到原因时,应逐一排查与患者因素相关的统计指标是否存在异常。

• 培养系统因素:取卵后的卵丘复合物、精液优化处理后的精子、IVF 加精后以及 ICSI 注射后都需要将配子放置于培养箱中,而 IVF 加精及 ICSI 注射则在室内环境下操作,所以期间培养箱及室内环境的任何异常或参数更改,包括温度、湿度以及气体浓度都会对受精率造成一定影响。查找正常受精率异常波动原因时,应逐步分析数据统计时段内培养箱条件(温湿度、气体浓度)、室内外环境(温湿度、VOC)、培养液及试剂耗材(品牌、批号、运输温度、存储温度以及使用有效期)有无异常波动。当上一级因素中未找到原因时,应逐一排查与培养系统因素相关的指标:

◇ 温度:温度对卵子的影响主要发生在卵子成熟过程中或成熟后,其通过影响卵子代谢及纺锤体功能而影响受精及后续胚胎发育结局^[15]。

◇ 湿度:湿度对卵子或胚胎的影响是间接的,主要是通过影响培养液内成分的浓度和渗透压来间接地影响卵子的质量。室内环境中的相对湿度对卵子质量的影响比培养箱内湿度更大^[16]。

◇ 气体浓度:CO₂ 主要是直接影响培养液 pH_e 进而影响胚胎细胞的 pH_i^[16-17]。培养箱 CO₂ 浓度

的调整与胚胎培养液组成有关。此外,目前较多研究结果显示低氧环境对受精、卵裂胚发育以及囊胚形成都是有利的^[18]。

◇ VOC:VOC 对卵子和胚胎的影响主要是通过培养液进入细胞直接影响细胞的生理功能,抑制细胞分裂,导致染色体异常等^[19]。若胚胎实验室有添置新的培养箱等设备或层流中效和高效滤膜,则一方面需要做好去除 VOC 工作,另一方面要时刻关注更换期间配子受精、胚胎发育以及临床妊娠等结局的数据是否存在异常波动。

◇ 培养液及试剂耗材:培养液及试剂耗材是直接配子和合子的,它们的稳定性直接决定了配子和胚胎的培养结局。培养液及试剂耗材的品牌和批号发生更改、运输温度或存储温度不达标以及超过使用有效期导致的质量问题都会影响正常受精率。

• 操作因素:操作因素主要包括操作流程及操作人员。任何一个操作流程的更改都需要及时记录相应的更改时间、具体内容,以及参与操作流程更改的操作人员,因为这些都有可能影响这个统计时间段内的受精、胚胎培养以及妊娠结局。操作人员的操作技术稳定性是确保胚胎实验室工作质量及稳定成功率的基础,也是其质量控制及质量保证的一个重要组成部分。因此,当正常受精率数据发生异常波动时,不仅需要查看该时间段内是否有对操作流程进行更改,还需要对涉及受精操作的所有相关操作人员进行分别统计,排查是否是由于某个或几个操作人员的操作问题造成的。由于在 IVF 和 ICSI 受精相关的部分操作流程是共有,而有些是 IVF 或 ICSI 所特有,因此将操作流程进行如下分类:

◇ 共有操作流程:① HCG 注射与 OPU 的间隔时间:延长 OPU 时间,增加卵母细胞在体内的成熟培养时间会有利于卵母细胞核质成熟的同步性,从而提高卵母细胞的质量并最终提高妊娠结局^[20]。② HCG 注射与授精的间隔时间:HCG 注射后授精时间可能会影响卵母细胞的发育能力^[21]。HCG 注射后授精时间过早,由于卵母细胞核质没有充分成熟,纺锤体等细胞器尚未为精卵结合做好充分准备,继而影响受精、胚胎发育以及妊娠结局;若过晚则会造造成卵母细胞过度成熟而错过最佳受精时机,也会影响结局^[22]。然而,也有文献报道并未发现 HCG 注射后授精时间对 IVF 或 ICSI 治疗周期的正常受精率有显著影响^[23-24]。③ 剥卵针管径大小:剥卵针

管径过小会使卵母细胞受到挤压,有可能会损害其透明带,有时甚至会导致卵母细胞破裂,从而影响卵子质量^[25]。若采购的剥卵针管径大小发生改变,需及时记录使用这种剥卵针的具体时间,以及观察并统计该时间段内的正常受精率及胚胎发育结局是否发生异常。④原核观察时间点:根据 2011 年版 ESHRE 发布的 Istanbul 共识^[26] 设置了受精及胚胎发育观察时间,如果在不合适的原核观察时间进行观察,则无法准确判断受精从而影响正常受精率。若正常受精率数据出现异常波动,则应核查数据统计周期内有无改动原核观察时间点。

◇ IVF 受精操作流程:①精卵共孵育时间:常规 IVF 受精一般是精卵共培养 18~20 h,而短时受精的精卵共培养时间缩短至 1~6 h。目前认为短时受精并不会影响正常受精率和妊娠结局^[27-28]。但是,精卵共孵育时间究竟可以缩短至多久而又不影响正常受精率,目前尚无定论。所以,是否采用短时受精、短时受精比例的高低以及短时受精的精卵共孵育时间设置为多久是影响正常受精率的因素之一。②加精精子总数:精子浓度在很大的一个范围内获得的受精率相似,在 30~50 μl 的液滴内加精 5 000~10 000 条,或在 1 ml 的培养液内加精 15~30 万条。但是过高的加精浓度可能导致多精受精率升高和培养体系生化环境下降,因此正常受精率必然受影响。若正常受精率出现异常波动,则应核查数据统计周期内有无改动精卵共孵育时间及加精精子总数。

◇ ICSI 特有受精操作流程:①ICSI 注射针内径大小:相比于 5~7 μm ,选用 3~5 μm 内径的注射针能显著提高 ICSI 正常受精率^[29]。若正常受精率的质控数据出现异常波动,则应核查数据统计周期内有无更换 ICSI 注射针内径大小。②OPU 与 ICSI 的间隔时间:研究发现 OPU 与 ICSI 的间隔时间在 2 h^[30] 或 3~12 h^[31] 都可以获得较好的 ICSI 受精及胚胎发育结局。③剥除颗粒细胞与 ICSI 的间隔时间:研究发现剥除颗粒细胞后大于 5 h 进行 ICSI 注射对正常受精率、卵裂率及妊娠结局有负面影响^[32]。④透明质酸酶浓度及处理时间:卵母细胞在透明质酸酶溶液内停留的时间不宜过长(少于 1 分钟),且透明质酸酶的浓度不宜过高,一般为 80 IU/ml,不然会增加卵子的退化率及孤雌发生率。研究发现降低透明质酸酶浓度可以提高受精率及胚胎质量^[33]。⑤PVP 浓度:PVP 浓度或 PVP 注入量可能会对纺锤

体造成不可逆的影响从而影响 ICSI 正常受精率^[34]。

⑥精子制动方法:精子制动的方法包括吹吸、挤压和压电法,采用不同的精子制动方法对受精率有影响^[35]。⑦极体位置:第一极体位置是否会影响 ICSI 注射后受精和胚胎发育结局仍存在争议^[36-39]。一般建议 ICSI 注射时将第一极体位于 11~12 点。

• 其它因素:若正常受精率异常波动,应核查统计时间段内是否存在一些特殊病例(例如卵子成熟障碍,母方或父方染色体异常^[40]等)。

4. 指标参考值:建议指标的参考值以各胚胎实验室的既往数据为基础,以下提供的数值仅供参考:

• 2015 年中国医学会生殖医学分会(CSRM)^[41] 提供 IVF 和 ICSI 正常受精率的平均值分别为 66.00% 和 73.83%。

• 2017 年 Vienne 共识^[4] 建议 IVF 正常受精率的能力值 $\geq 60\%$, 基准值 $\geq 75\%$; ICSI 正常受精率的能力值 $\geq 65\%$, 基准值 $\geq 80\%$ 。

• 2012 年 ACE 指南^[3] 建议 IVF 受精率的基准值 $> 65\%$; ICSI 正常受精率的基准值 $> 65\%$ 。

(二) ICSI 卵子退化率

共识建议:建议 ICSI 卵子退化率作为胚胎实验室关键指标(2C)。

ICSI 卵子退化定义为卵子在 ICSI 注射后或者第 2 天观察受精时发生凋亡。ICSI 卵子退化率 = ICSI 退化卵子数/注射 M II 卵子总数 $\times 100\%$ ^[3-4]。2017 年 Vienne 共识^[4] 及 2012 年 ACE 指南^[3] 建议 ICSI 卵子退化率作为胚胎实验室关键指标。ICSI 卵子退化率可反映配子质量及胚胎学家 ICSI 操作。

1. 涉及的常规记录指标:

- M II 卵数、ICSI 退化卵子数、卵子形态;
- 患者年龄、原发不孕比例、不孕因素、Day 3 卵泡刺激素(FSH)水平以及 HCG 日雌激素水平;
- 操作人员及操作流程相关指标:a. 剥卵针管径大小;b. ICSI 注射针内径大小;c. 透明质酸酶浓度及处理时间;
- 培养箱(温湿度、气体浓度);室内外环境(温湿度、VOC);培养液及试剂耗材(品牌、批号、运输温度、存储温度以及使用有效期);
- 特殊病例。

2. 统计周期:为了及时发现异常,建议中心根据周期数在保证足够样本量的基础上,设置相应的近期动态时间(如近 3~15 d)来分析 ICSI 卵子退

化率。

3. 异常数据分析路径:当 ICSI 卵子退化率异常时,按下列因素进行分析:

• 卵子因素:卵子质量对 ICSI 卵子退化率有直接的影响。当数据异常时,应当分析包括 M II 卵数^[42]、M II 率、卵子形态异常情况。

• 患者因素:患者因素有可能通过影响卵子质量从而影响 ICSI 卵子退化率。当在卵子因素中找不到异常原因时,应逐一排查与患者因素相关的指标是否存在异常情况,包括患者年龄、原发不孕比例、不孕因素、Day 3 FSH 水平以及 HCG 日雌激素水平^[42]。

• 操作因素:卵子因素及患者因素都无异常情况下,则下一步应分析 ICSI 操作人员以及操作流程有无更改情况。剥卵针管径大小^[25]、ICSI 注射针内外径大小^[43]以及操作人员^[44]都与 ICSI 卵子退化率有关。

• 培养系统因素:取卵后、剥脱颗粒细胞后以及 ICSI 注射后都需要在培养箱中孵育一段时间,而且 ICSI 操作主要在室内环境下进行,所以培养箱及室内外环境的任何异常波动或参数更改,包括温度、湿度以及气体浓度都会对 ICSI 卵子退化率产生一定程度的影响。此外,涉及 ICSI 操作相关的培养液及试剂耗材的品牌和批号发生更改、运输温度或存储温度不达标以及超过使用有效期导致的质量问题也可能会影响 ICSI 卵子退化率。所以,分析卵子因素、患者因素以及操作因素后无异常情况下,还应逐步分析数据统计时段内涉及取卵后以及 ICSI 前后的培养系统因素,包括培养箱条件(温湿度、气体浓度)、室内外环境(温湿度、VOC)、培养液及试剂耗材(品牌、批号、运输温度、存储温度以及使用有效期)。

4. 指标参考值:建议指标的参考值以各胚胎实验室的既往数据为基础,以下提供的数值仅供参考:

• 2017 年 Vienne 共识^[4]建议 ICSI 卵子退化率的能力值 $\leq 10\%$,基准值 $\leq 5\%$ 。

• 2012 年 ACE 指南^[3]建议 ICSI 卵子退化率的基准值 $< 10\%$ 。

(三)IVF 多 PN 率

共识建议:建议 IVF 多 PN 率作为胚胎实验室一般指标(2D)。

多 PN 定义为卵子受精后(17±1)h 出现大于 2

个原核。IVF 多 PN 率= $\geq 2PN$ 卵子数/IVF 加精卵子总数 $\times 100\%$ ^[3-4]。2017 年 Vienne 共识^[4]建议 IVF 多 PN 率作为胚胎实验室一般指标。当正常受精率发生异常时,可作为补充信息纳入分析。2012 年 ACE 指南^[3]建议 IVF 多 PN 率作为胚胎实验室关键指标。IVF 多 PN 率主要与配子操作与培养条件有关。

1. 涉及的常规记录指标:卵子总数、 $> 2PN$ 卵子数。

2. 统计周期:为了及时发现异常,建议中心根据周期数在保证足够样本量的基础上,设置相应的近期动态时间(如近 3~15 d)来分析 IVF 多 PN 率。

3. 指标参考值:建议指标的参考值以各胚胎实验室的既往数据为基础,以下提供的数值仅供参考:

• 2017 年 Vienne 共识^[4]建议 IVF 多 PN 率 $< 6\%$ 。

• 2012 年 ACE 指南^[3]建议 IVF 多 PN 率的基准值 $< 5\%$ 。

(四)1PN 率

共识建议:建议 1PN 率作为胚胎实验室一般指标(2D)。

1PN 定义为卵子受精后(17±1)h 出现 1 个原核。1PN 率(IVF)=1PN 卵子数/IVF 加精卵子总数 $\times 100\%$ ^[3-4];1PN 率(ICSI)=1PN 卵子数/注射 M II 卵子总数 $\times 100\%$ ^[3-4]。2017 年 Vienne 共识^[4]建议 1PN 率(IVF 及 ICSI)作为胚胎实验室一般指标,而 2012 年 ACE 指南^[3]建议 1PN 率(IVF 及 ICSI)作为胚胎实验室关键指标。1PN 率(IVF 及 ICSI)主要与配子操作与培养条件有关。当正常受精率这一关键指标发生异常时,可作为补充信息纳入分析。

1. 涉及的常规记录指标:M II 卵子数、卵子总数、1PN 卵子数。

2. 统计周期:为了及时发现异常,建议中心根据周期数在保证足够样本量的基础上,设置相应的近期动态时间(如近 3~15 d)来分析 1PN 率。

3. 指标参考值:建议指标的参考值以各胚胎实验室的既往数据为基础,以下提供的数值仅供参考。

• 2017 年 Vienne 共识^[4]建议 1PN 率(IVF) $< 5\%$,1PN 率(ICSI) $< 3\%$ 。

• 2012 年 ACE 指南^[3] 建议 IVF 多 PN 率的基准值 < 5%。

(五) IVF 受精失败率

共识建议: 建议 IVF 受精失败率作为胚胎实验室关键指标(2C)。

IVF 受精失败定义为 IVF 周期中受精后(17±1)h 无证据显示卵子有受精现象。IVF 受精失败率 = IVF 受精失败周期数/IVF 治疗周期总数 × 100%^[4]。2017 年 Vienne 共识^[4] 及 2012 年 ACE 指南^[3] 建议 IVF 受精失败率作为胚胎实验室关键指标。IVF 受精失败率可以预示配子质量(精子功能、卵子激活和配子受体等)、精子优化过程或是受精浓度等可能存在问题的重要指标。

1. 涉及的常规记录指标:

- IVF 受精失败周期数, IVF 治疗周期总数;
- 精液处理方式、精子活动力、浓度、形态学参数、精子遗传学情况;
- 操作人员、加精浓度;
- 试剂及耗材批号; 培养箱温度、CO₂ 浓度; 冰箱温度、室内外环境;
- 患者平均年龄、原发不孕比例、不孕原因、平均不孕年限等。

2. 统计周期: 为了及时发现异常, 建议中心根据周期数在保证足够样本量的基础上, 设置相应的近期动态时间(如近 3~15 d)来分析 IVF 受精失败率。

3. 异常数据分析路径: 当 IVF 受精失败率异常时, 按下列因素进行分析:

- 配子因素: 包括卵子因素和精子因素。卵子因素包括 MII 卵子数、MII 率、卵子总数、卵子形态异常、卵子遗传学异常。精子因素包括精液处理前后的活动力、浓度、形态学等精液参数^[45] 是否异常; 遗传学异常和 DNA 碎片程度。

- 操作因素: 操作人员、加精精子总数、精子优化方法。

- 培养系统因素: 培养箱条件(温湿度、气体浓度)、室内外环境(温湿度、VOC、尘埃粒子等)、培养液及耗材(批号、存储条件等)。

- 患者因素: 患者年龄^[46]、原发不孕比例、不孕因素、不孕年限^[46]、既往不良治疗史, BMI 及其它不良生活习惯等。

- 其它因素: 操作者自身及操作者间的评分标准差异、特殊病例。

4. 指标参考值: 建议指标的参考值以各胚胎实验室的既往数据为基础, 以下提供的数值仅供参考:

- 2017 年 Vienne 共识^[4] 建议 IVF 受精失败率 < 5%。

- 2012 年 ACE 指南^[3] 建议 IVF 受精失败率 < 5%。

(六) 活检成功率

共识建议: 建议活检成功率作为胚胎实验室关键指标(2C)。

活检成功定义为样本在活检以及装管或固定后能够成功被检测到 DNA。活检成功率 = 检测到 DNA 的活检样本数/总活检样本数 × 100%^[4]。2017 年 Vienne 共识^[4] 建议活检成功率作为胚胎实验室关键指标。活检成功率能够检验胚胎学家将活检及样本转移的能力, 这种能力最后是通过样品的阳性 DNA 扩增得到证实。

1. 涉及的常规记录指标:

- 检测到 DNA 的活检样本数、总活检样本数;
- 试剂及耗材批次;
- 操作人员。

2. 统计周期: 为了及时发现异常, 建议中心根据周期数在保证足够样本量的基础上, 设置以月为单位来分析活检成功率。

3. 异常数据分析路径: 当活检成功率异常时, 按下列因素进行分析。

- 操作因素: 主要是操作人员, 包括负责活检及装管的胚胎学家及进行样本 DNA 扩增的 PGD 学家。

- 试剂耗材: 活检、固定、扩增过程中涉及到的试剂及耗材的批次、有效期以及质量等。

4. 指标参考值: 建议指标的参考值以各胚胎实验室的既往数据为基础, 以下提供的数值仅供参考:

- 欧洲 ESHRE PGD 协会报道的数据: 254 820 活检样本的活检成功率是 91%^[47]。

- 2017 年 Vienne 共识^[4] 建议活检成功率的能力值 ≥ 90%, 基准值 ≥ 95%。

(七) 胚胎复苏存活率及复苏完整率

共识建议: 建议复苏存活率及复苏完整率为胚胎实验室关键指标(2C)。

冷冻复苏技术迅速发展, 尤其是操作简单、耗时短的玻璃化冷冻技术的应用使冷冻胚胎的

存活率明显提高。尽管冷冻复苏技术日趋成熟,但冷冻或复苏操作过程仍有可能对部分胚胎造成损伤。因此,对胚胎冷冻存活率进行质量控制十分必要。

卵裂胚复苏存活定义为复苏后 $\geq 50\%$ 卵裂球完整;卵裂胚复苏完整定义为复苏后所有卵裂球完整;囊胚复苏存活定义为解冻复苏后 $\geq 75\%$ 细胞完整。复苏存活率=存活卵裂胚或囊胚数/复苏卵裂胚或囊胚总数 $\times 100\%$ ^[48];复苏完整率=完整卵裂胚数/复苏卵裂胚总数 $\times 100\%$ ^[48]。

2012 年由生殖医学 Alpha 科学家制定的冷冻保存关键指标及基准专家共识^[48](简称“Alpha 共识”)建议复苏存活率及复苏完整率为胚胎实验室关键指标;2012 年 ACE 指南^[3]建议复苏存活率为胚胎实验室关键指标。复苏存活率及复苏完整率是反映胚胎实验室冷冻及解冻技术水平的重要指标,也是监控胚胎冷冻及解冻各环节最具预警性的质控指标。

1. 涉及的常规记录指标:

- 存活卵裂胚或囊胚数、完整卵裂胚数、复苏卵裂胚或囊胚总数。

- 冷冻方法、冷冻时间、复苏胚胎冷冻前、解冻后及移植时的优胚率、复苏胚胎移植时细胞数是否增加。

- 操作人员及操作流程相关指标:a. 冷冻/解冻液中相应成分及其浓度;b. 冷冻液及解冻液处理时间。

- 培养箱(温湿度、气体浓度);室内外环境(温湿度、VOC);培养液及试剂耗材(品牌、批号、运输温度、存储温度以及使用有效期)。

2. 统计周期:为了及时发现异常,建议中心根据周期数在保证足够样本量的基础上,设置相应的近期动态时间(如近 3~15 d)来分析冷冻胚胎复苏存活率及完整率。

3. 数据异常分析路径:复苏存活率及完整率与胚胎质量、操作及复苏后的培养条件等环节的多个因素有关,任何环节出现异常均可影响复苏胚胎的存活率及完整率,具体按下列因素进行分析:

• 复苏胚胎因素:

- ◇ 冷冻方法:玻璃化冷冻的卵母细胞、卵裂期胚胎和囊胚复苏存活率均优于程序化冷冻技术^[49],所以复苏胚胎在冷冻时所采用的冷冻方法直接影响

着其解冻后的存活率及完整率。

- ◇ 冷冻时间:玻璃化冷冻中采用高浓度的冷冻保护剂二甲基亚砜(DMSO)是具有一定的胚胎毒性,胚胎一直处于 DMSO 中冷冻保存的时间有可能会对复苏胚胎存活率及完整率以及胚胎移植结局产生影响^[50]。

- ◇ 冷冻前复苏胚胎优胚率:冷冻前的复苏胚胎优胚率反映了胚胎在未经任何冷冻解冻等操作情况前的最初状态。若分析该数据出现异常情况,表明该统计时间段内的复苏胚胎在冷冻之前就已经存在胚胎质量方面的问题,需核查复苏胚胎在新鲜取卵周期中的可能影响因素。若无异常,则进行下一个因素分析。

- 冷冻及解冻操作因素:复苏胚胎因素无异常情况下,则下一步应分析进行冷冻解冻操作相关的人员以及操作流程有无更改情况。冷冻及解冻过程中涉及的操作流程更改主要还是在冷冻及解冻液中相应成分及其浓度、冷冻液及解冻液的处理时间上的更改。这些更改可能与复苏胚胎存活率及完整率数据异常波动有关。

- 培养系统因素:包括培养箱条件(温湿度、气体浓度)、室内外环境(温湿度、VOC)、培养液及试剂耗材(品牌、批号、运输温度、存储温度以及使用有效期)。胚胎解冻后都需要在培养箱中孵育一段时间,尤其是复苏卵裂期胚胎需要提前一天解冻,所以其在培养箱中待的时间比复苏囊胚更长。此外,冷冻和解冻操作主要在室内环境下进行,所以培养箱及室内外环境的任何异常波动或参数更改,包括温度、湿度以及气体浓度都会对复苏胚胎存活率及完整率的质控数据造成一定程度的影响。此外,涉及冷冻及解冻操作及后续培养相关的培养液及试剂耗材的品牌和批号发生更改、运输温度或存储温度不达标以及超过使用有效期导致的质量问题也可能会影响复苏胚胎存活率及完整率。

- 其它因素:操作者自身及操作者间的评分标准差异、特殊病例等。

4. 指标参考值:建议指标的参考值以各胚胎实验室的既往数据为基础,以下提供的数值仅供参考。

2012 年 Alpha 共识^[48]建议复苏存活率及复苏完整率的能力值和基准值如下表所示:

卵裂胚	复苏存活率	慢速冷冻法	能力值≥60%	基准值≥85%
		玻璃化冷冻法	能力值≥85%	基准值≥95%
	复苏完整率	慢速冷冻法	能力值≥40%	基准值≥55%
		玻璃化冷冻法	能力值≥70%	基准值≥85%
囊胚	复苏存活率	慢速冷冻法	能力值≥70%	基准值≥85%
		玻璃化冷冻法	能力值≥80%	基准值≥95%

二、II 类——指示胚胎质量的指标

(一) 卵裂率

共识建议: 建议卵裂率作为胚胎实验室关键指标(2C)。

卵裂率 = D2 卵裂胚胎数 / 正常受精卵子数 × 100%^[4]。2017 年 Vienne 共识^[4]以及 2012 年 ACE 指南^[3]建议卵裂率作为胚胎实验室关键指标。卵裂率是反映培养系统是否适宜、卵子微管及微丝功能是否正常、中心粒结构是否完整等的重要指标。保持正常的卵裂率将为临床提供更多的可利用胚胎, 为患者成功妊娠提供保证。

1. 涉及的常规记录指标:

- D2 卵裂胚胎数、正常受精卵子总数;
- 试剂及耗材批次;
- 培养箱温度、CO₂ 浓度; 气体批次、冰箱温度、室内外环境;
- 操作人员等。

2. 统计周期: 为了及时发现异常, 建议中心根据周期数在保证足够样本量的基础上, 设置相应的近期动态时间(如近 3~15 d)来分析卵裂率。

3. 异常数据分析路径: 受精卵对微环境的变化敏感, 培养体系内温度、湿度、渗透压及 pH 的变化, 培养环境中机械振动、噪音、光照以及人为操作过程中的不良刺激等因素都会影响胚胎的发育潜能。因此, 当卵裂率异常时, 按以下因素进行分析:

- 正常受精率: 是否异常, 如异常则按正常受精率异常分析路径进行分析;
- 培养系统因素: 培养箱条件(温湿度、气体浓度)、室内外环境(温湿度、VOC、尘埃粒子等)、培养液及耗材(批号、存储条件等);
- 患者因素: 患者年龄、原发不孕比例、不孕因素、不孕年限、既往不良治疗史、BMI 及其它不良生活习惯等;
- 其它因素: 操作者自身及操作者间的评分标准差异、特殊病例。

4. 指标参考值: 建议指标的参考值以各胚胎实验室的既往数据为基础, 以下提供的数值仅供参考:

- 2017 年 Vienne 共识^[4] 建议卵裂率的能力值≥95%, 基准值≥99%。
- 2012 年 ACE 指南^[3] 建议卵裂率的基准值>90%。

(二) 胚胎形成率

共识建议: 建议胚胎形成率为胚胎实验室关键指标(2C)。

胚胎形成定义为受精后第 2 天[(44±1)h]或第 3 天[(68±1)h]卵裂形成 4 细胞期或 8 细胞期胚胎。D2 胚胎形成率 = D2 4-细胞胚胎数 / 正常受精卵子数 × 100%^[4]; D3 胚胎形成率 = D3 8-细胞胚胎数 / 正常受精卵子数 × 100%^[4]。2017 年 Vienne 共识^[4]建议 D2 胚胎形成率及 D3 胚胎形成率都为胚胎实验室关键指标。D2 胚胎形成率及 D3 胚胎形成率是预示胚胎质量和活力、胚胎培养体系是否适合卵裂到预期阶段的重要指标。D2 胚胎形成率及 D3 胚胎形成率仅考虑胚胎发育阶段, 无关胚胎级别, 具有最高的预测价值且便于客观测量。

1. 涉及的常规记录指标:

- D2 4-细胞胚胎数、D3 8-细胞胚胎数、正常受精卵子数;
- 试剂及耗材批次;
- 培养箱温度、CO₂ 浓度; 气体批次、冰箱温度、室内外环境;
- 操作人员等。

2. 统计周期: 为了及时发现异常, 建议中心根据周期数在保证足够样本量的基础上, 设置相应的近期动态时间(如近 3~15 d)来分析胚胎形成率。

3. 异常数据分析路径: D3 胚胎形成率异常时, 根据下列因素进行分析:

- 首先分析卵裂率是否异常, 若异常, 则按卵裂率异常分析路径进行分析;
- 若卵裂率正常, 则分析培养系统因素: 培养箱

条件(温湿度、气体浓度)、室内外环境(温湿度、VOC、尘埃粒子等)、培养液及耗材(批号、存储条件等);

• 患者因素:患者年龄、原发不孕比例、不孕因素、不孕年限、既往不良治疗史、BMI 及其它不良生活习惯等;

• 其它因素:操作者自身及操作者间的评分标准差异、特殊病例。

4. 指标参考值:建议指标的参考值以各胚胎实验室的既往数据为基础,以下提供的数值仅供参考:

• 2017 年 Vienne 共识^[4]建议 D2 胚胎形成率的能力值≥50%,基准值≥80%;D3 胚胎形成率的能力值≥45%,基准值≥70%。

(三)D3 优质胚胎率

共识建议:建议 D3 优质胚胎率为胚胎实验室内部的参考指标(2D)。

D3 优质胚胎一般定义为来源于正常受精卵,且受精后第 3 天胚胎细胞数为 7~9 个、细胞大小符合发育阶段、碎片程度小于 10%、无多核化的胚胎。D3 优质胚胎率=D3 优质胚胎数/正常受精卵子数×100%^[26,51]。D3 优质胚胎率可作为实验室内部的参考指标。D3 优质胚胎定义是否合适主要取决于是否与胚胎移植后的临床结局相匹配。国内不同生殖中心对优质胚胎的定义不统一,胚胎评分体系存在差异,评分结果也带有主观性,所以 D3 优质胚胎率的计算结果是有差异的。

1. 涉及的常规记录指标:

- D3 优质胚胎数、正常受精卵子数;
- 试剂及耗材批次;
- 培养箱温度、CO₂ 浓度;气体批次、冰箱温度、室内外环境;
- 操作人员等。

2. 统计周期:为了及时发现异常,建议中心根据周期数在保证足够样本量的基础上,设置相应的近期动态时间(如近 3~15 d)来分析 D3 优质胚胎率。

3. 指标参考值:建议指标的参考值以各胚胎实验室的既往数据为基础,以下提供的数值仅供参考:

• 2015 年中国 CSRME^[41]提供 IVF 和 ICSI 的 D3 优质胚胎率的平均值分别为 44.10%和 42.82%。

(四)囊胚形成率

共识建议:建议囊胚形成率作为胚胎实验室关键指标(2C)。

囊胚形成率中的囊胚定义为受精(116±2)h 后

由正常受精卵发育形成的囊胚,不考虑囊胚分期及质量。囊胚形成率=(D5/D6/总的囊胚数)/正常受精卵子数×100%^[3-4]。2017 年 Vienne 共识^[4]及 2012 年 ACE 指南^[3]建议囊胚形成率作为胚胎实验室关键指标。囊胚形成率是反映胚胎活力及胚胎实验室囊胚培养技术的首要指标,同时也是监控囊胚培养各环节是否正常的质控指标。

1. 涉及的常规记录指标:

- D5 及 D6 形成的囊胚数、正常受精卵子数;
- 试剂及耗材批次;
- 培养箱温度、CO₂ 浓度;气体批次、冰箱温度、室内外环境;
- 操作人员等。

2. 统计周期:为了及时发现异常,建议中心根据周期数在保证足够样本量的基础上,设置相应的近期动态时间(如近 3~15 d)来分析囊胚形成率。

3. 异常数据分析路径:囊胚形成率异常时,根据下列因素进行分析:

• 首先分析 D3 胚胎形成率是否异常,若异常则按 D3 胚胎形成率异常分析路径进行分析;

• 若 D3 胚胎形成率正常,则分析培养系统因素:囊胚培养箱条件(温湿度、气体浓度)、室内外环境(温湿度、VOC、尘埃粒子等)、培养液及耗材(批号、存储条件等);

• 患者因素:患者年龄、原发不孕比例、不孕因素、不孕年限、既往不良治疗史、BMI 及其它不良生活习惯等;

• 其它因素:操作者自身及操作者间的评分标准差异、特殊病例。

4. 指标参考值:建议指标的参考值以各胚胎实验室的既往数据为基础,以下提供的数值仅供参考:

• 2017 年 Vienne 共识^[4]建议囊胚形成率的能力值≥40%,基准值≥60%。

• 2012 年 ACE 指南^[3]建议囊胚形成率的基准值>50%。

(五)优质囊胚形成率

共识建议:建议优质囊胚形成率为胚胎实验室一般指标(2C)。

优质囊胚一般定义为 Gardner 评分标准中 3 期及 3 期以上且内细胞团和滋养层评分不含 C 的囊胚。优质囊胚形成率=优质囊胚数/正常受精卵子数×100%^[4]。2017 年 Vienne 共识^[4]建议优质囊胚形成率作为胚胎实验室一般指标,其主要与胚胎

活力及囊胚培养条件有关。

1. 涉及的常规记录指标:

- 优质囊胚数、正常受精卵子数;
- 试剂及耗材批号;
- 培养箱温度、CO₂ 浓度; 冰箱温度、室内外环境;
- 操作人员;
- 患者平均年龄、原发不孕比例、不孕原因、平均不孕年限等。

2. 统计周期: 为了及时发现异常, 建议中心根据周期数在保证足够样本量的基础上, 设置相应的近期动态时间(如近 3~15 d)来分析优质囊胚形成率。

3. 指标参考值: 建议指标的参考值以各胚胎实验室的既往数据为基础, 以下提供的数值仅供参考:

- 2017 年 Vienne 共识^[4] 建议优质囊胚形成率的能力值 $\geq 30\%$, 基准值 $\geq 40\%$ 。

(六) 优质囊胚比率

共识建议: 建议优质囊胚比率作为胚胎实验室一般指标(2C)。

优质囊胚比率 = 优质囊胚数/囊胚形成数 $\times 100\%$ ^[4]。2017 年 Vienne 共识^[4] 建议优质囊胚比率作为胚胎实验室一般指标。由于优质囊胚比率是从两个指标中推断出来的, 所以该共识中没有给出参考值。

1. 涉及的常规记录指标:

- 优质囊胚数、囊胚形成数;
- 试剂及耗材批号;
- 培养箱温度、CO₂ 浓度; 冰箱温度、室内外环境;
- 操作人员;
- 患者平均年龄、原发不孕比例、不孕原因、平均不孕年限等。

2. 统计周期: 为了及时发现异常, 建议中心根据周期数在保证足够样本量的基础上, 设置相应的近期动态时间(如近 3~15 d)来分析优质囊胚比率。

3. 指标参考值: 无。

三、Ⅲ类——指示结局的指标

(一) D5 囊胚移植率

共识建议: 建议 D5 囊胚移植率作为胚胎实验室一般指标(2C)。

D5 囊胚移植率 = 至少有 1 个由正常受精卵发育而来 D5 可利用囊胚的周期数/囊胚培养周期数 \times

100%^[4]。2017 年 Vienne 共识^[4] 建议 D5 囊胚移植率作为胚胎实验室一般指标。D5 囊胚移植率可以反映胚胎培养体系的有效性, 但只适用于那些采用 D5 移植策略的生殖中心。此外, 由于 D5 囊胚移植率涉及太多临床相关变量(包括胚胎移植策略), 胚胎实验室应自行设定相应的预期值。

1. 涉及的常规记录指标:

- 至少有 1 个由正常受精卵发育而来 D5 可利用囊胚的周期数、囊胚培养周期数;
- 试剂及耗材批号;
- 培养箱温度、CO₂ 浓度; 冰箱温度、室内外环境;
- 操作人员;
- 患者平均年龄、原发不孕比例、不孕原因、平均不孕年限。

2. 统计周期: 为了及时发现异常, 建议中心根据周期数在保证足够样本量的基础上, 设置相应的近期动态时间(如近 3~15 d)来分析 D5 胚胎移植率。

3. 指标参考值: 无。

(二) β -HCG 阳性率

共识建议: 建议 β -HCG 阳性率作为胚胎实验室关键指标(2C)。

β -HCG 阳性定义为胚胎移植后 14 d 左右血液中 β -HCG 值超过正常值 2 次。

β -HCG 阳性率 = β -HCG 阳性周期数/新鲜移植周期数(或冻融移植周期数或新鲜取卵周期数或冻融周期数) $\times 100\%$ ^[3]。2012 年 ACE 指南^[3] 建议 β -HCG 阳性率作为胚胎实验室关键指标。血清或尿液 β -HCG 水平是最早反映胚胎种植指标, 也是检验胚胎培养室在试剂耗材、培养系统、操作技能方面质量控制是否合格的综合性参考指标, 极具预警性。对其定时监测可及时发现临床和胚胎培养室中可能存在的问题, 防止问题扩大化。

1. 涉及的常规指标:

- β -HCG 阳性周期数、移植周期数、取卵周期数、冻融周期数;
- 患者年龄、子宫及内膜评估、不孕年限、不孕因素、治疗周期;
- 移植胚胎类型/数量/质量;
- 方案;
- 试剂及耗材批次; 培养箱温度、CO₂ 浓度; 气体批次、冰箱温度、室内外环境;

- 操作人员等。

2. 数据统计周期:为了及时发现异常,建议中心根据周期数在保证足够样本量的基础上,设置相应的近期动态时间(如近 5~15 d)来分析 β -HCG 阳性率。

3. 异常数据分析路径:影响 β -HCG 阳性率的因素较多,包括胚胎实验室、临床以及患者自身因素等多个方面,若 β -HCG 阳性率异常时,胚胎实验室按下列因素进行分析:

- 胚胎因素:从移植胚胎,如囊胚移植比例、移植胚胎个数、移植胚胎等级、移植优胚率、移植胚胎来源情况等方面进行分析;

- 操作因素:移植操作人员、辅助孵化(是否采用,面积、位置、激光强度)等;

- 培养系统因素:培养箱条件(温湿度、气体浓度)、室内外环境(温湿度、VOC、尘埃粒子等)、培养液及耗材(批号、存储条件等);

- 患者因素:从年龄、卵巢储备评估、子宫/盆腔评估、不孕年限、不孕因素、既往周期、遗传因素^[52]等进行分析;

- 方案因素:各方案的构成、启动 Gn 时间、Gn 剂量/时间、扳机时机/剂量、黄体支持等;

- 其它因素:特殊病例等。

4. 指标参考值:建议指标的参考值以各胚胎实验室的既往数据为基础,以下提供的数值仅供参考:

- 2014 年美国辅助生殖技术协会(SART)^[53]提供新鲜移植周期及冻融移植周期 β -HCG 阳性率平均值分别为 53.38% 和 59.74%。

- 2012 年 ACE 指南^[3]建议每新鲜取卵周期 β -HCG 阳性率的基准值:40%(卵裂胚)、45%(囊胚);每新鲜移植周期 β -HCG 阳性率的基准值:45%(卵裂胚)、50%(囊胚);每冻融周期 β -HCG 阳性率的基准值:35%(卵裂胚)、40%(囊胚);每冻融移植周期 β -HCG 阳性率的基准值:40%(卵裂胚)、45%(囊胚)。

(三) 种植率

共识建议:建议种植率作为胚胎实验室关键指标(2C)。

种植率 = 孕囊数/移植(卵裂胚或囊胚)胚胎数 $\times 100\%$ ^[4]。2017 年 Vienne 共识^[4]建议种植率作为胚胎实验室关键指标。种植率计算中使用的是孕囊数,而非胎心,不涉及妊娠是否建立。种植率是检验胚胎实验室稳定性的重要指标。种植率低预示

着胚胎实验室存在系统性问题。卵裂胚的种植率势必会低于囊胚移植。种植率还受临床因素和胚胎移植策略的影响。

1. 涉及的常规指标:

- 孕囊数、移植胚胎数;

- 患者年龄、子宫及内膜评估、不孕年限、不孕因素、治疗周期;

- 移植胚胎类型/数量/质量;

- 方案;

- 试剂及耗材批次;培养箱温度、CO₂ 浓度;气体批次、冰箱温度、室内外环境;

- 操作人员等。

2. 数据统计周期:为了及时发现异常,建议中心根据周期数在保证足够样本量的基础上,设置相应的近期动态时间(如近 5~15 d)来分析种植率。

3. 异常数据分析路径:影响种植率的因素较多,包括胚胎实验室、临床以及患者自身因素等多个方面,若种植率异常时,胚胎实验室按下列因素进行分析:

- 胚胎因素:从移植胚胎,如囊胚移植比例、移植胚胎个数、移植胚胎等级、移植优胚率、移植胚胎来源情况等方面进行分析。

- 操作因素:移植操作人员、辅助孵化(是否采用,面积、位置、激光强度)等。

- 培养系统因素:培养箱条件(温湿度、气体浓度)、室内外环境(温湿度、VOC、尘埃粒子等)、培养液及耗材(批号、存储条件等)。

- 患者因素:从年龄、卵巢储备评估、子宫/盆腔评估、不孕年限、不孕因素、既往周期、遗传因素^[52]等进行分析。

- 方案因素:各方案的构成、启动 Gn 时间、Gn 剂量/时间、扳机时机/剂量、黄体支持等。

- 其它因素:特殊病例等。

4. 指标参考值:建议指标的参考值以各胚胎实验室的既往数据为基础,以下提供的数值仅供参考:

- 2016 年中国 CSRM^[41]提供 IVF 和 ICSI 新鲜移植周期种植率平均值分别为 36.53% 和 35.24%,冻融移植周期种植率平均值分别为 35.79%。

- 2014 年美国辅助生殖技术协会(SART)^[53]提供新鲜移植周期及冻融移植周期种植率平均值分别为 29.92% 和 33.51%。

- 2017 年 Vienne 共识^[4]建议卵裂胚种植率的能力值 $\geq 25\%$,基准值 $\geq 35\%$;囊胚种植率的能力

值 $\geq 35\%$, 基准值 $\geq 60\%$ 。

(四) 临床妊娠率

共识建议: 建议临床妊娠率作为胚胎实验室关键指标(2C)。

临床妊娠定义为胚胎移植 4~7 周后 B 超介导下子宫内可见孕囊组织或流产物病理证实。临床妊娠率=临床妊娠周期数/新鲜移植周期数(或冻融移植周期数或新鲜取卵周期数或冻融周期数) $\times 100\%$ ^[3]。2012 年 ACE 指南^[3] 建议临床妊娠率作为胚胎实验室关键指标。临床妊娠是胚胎着床后继续发育的标志, 不仅是胚胎实验室, 也是临床检测患者评估、促排卵方案选择、临床操作技能和各环节质量控制是否合格的综合性指标。部分患者为生化妊娠(β -HCG 阳性但无临床妊娠), 提示胚胎不能继续发育, 这与胚胎质量密切相关。

1. 涉及的常规指标:

- 临床妊娠周期数、移植周期数、取卵周期数、冻融周期数;
- 患者年龄、子宫及内膜评估、不孕年限、不孕因素、治疗周期;
- 移植胚胎类型/数量/质量;
- 方案、药物;
- 试剂及耗材批次; 培养箱温度、CO₂ 浓度; 气体批次、冰箱温度、室内外环境;
- 操作人员等。

2. 数据统计周期: 为了及时发现异常, 建议中心根据周期数在保证足够样本量的基础上, 设置相应的近期动态时间(如近 5~15 d)来分析临床妊娠率。

3. 异常数据分析路径: 影响临床妊娠率的因素较多, 包括胚胎实验室、临床以及患者自身因素等多个方面, 若临床妊娠率异常时, 胚胎实验室从下列因素进行分析:

- 胚胎因素: 从移植胚胎, 如囊胚移植比例、移植胚胎个数、移植胚胎等级、移植优胚率、移植胚胎来源情况等方面进行分析。
- 培养系统因素: 培养箱条件(温湿度、气体浓度)、室内外环境(温湿度、VOC、尘埃粒子等)、培养液及耗材(批号、存储条件等)。
- 操作因素: 移植操作人员、辅助孵化(是否采用, 面积、位置、激光强度)等。
- 患者因素: 从年龄、卵巢储备评估、子宫/盆腔评估、不孕年限、不孕因素、既往周期、遗传因素^[52]

等进行分析。

- 方案因素: 各方案的构成、启动 Gn 时间、Gn 剂量/时间、扳机时机/剂量、黄体支持等。

- 其它因素: 特殊病例等。

4. 指标参考值: 建议指标的参考值以各胚胎实验室的既往数据为基础, 以下提供的数值仅供参考:

- 2015 年中国 CSRME^[41] 提供 IVF 和 ICSI 新鲜移植周期临床妊娠率平均值分别为 52.00% 和 49.60%, 冻融移植周期临床妊娠率平均值为 50.08%。

- 2012 年欧洲人类生殖与胚胎学会(ESHRE)^[54] 提供 IVF 和 ICSI 新鲜移植周期临床妊娠率平均值分别为 33.80% 和 32.30%, 冻融移植周期临床妊娠率平均值为 23.10%。

- 2014 年美国 SART^[53] 提供新鲜移植周期和冻融移植周期临床妊娠率平均值分别为 47.56% 和 48.59%。

- 2012 年 ACE 指南^[3] 建议每新鲜取卵周期临床妊娠率的基准值: 35%(卵裂胚)、40%(囊胚); 每新鲜移植周期临床妊娠率的基准值: 40%(卵裂胚)、45%(囊胚); 每冻融周期临床妊娠率的基准值: 30%(卵裂胚)、35%(囊胚); 每冻融移植周期临床妊娠率的基准值: 35%(卵裂胚)、40%(囊胚)。

【参 考 文 献】

- [1] De Los SM, Apter S, Cotichio G, et al. Revised guidelines for good practice in IVF laboratories (2015) [J]. Hum Reprod, 2016, 31:685-686.
- [2] Mortimer S, Mortimer D. Quality and risk management in the IVF laboratory [M]. Cambridge, UK: Cambridge University Press, 2015.
- [3] Hughes C. Association of clinical embryologists-guidelines on good practice in clinical embryology laboratories 2012 [J]. Hum Fertil (Camb), 2012, 15:174-189.
- [4] ESHRE Special Interest Group of Embryology and Alpha Scientists in Reproductive Medicine. The Vienna consensus: report of an expert meeting on the development of ART laboratory performance indicators [J/OL]. Reprod Biomed Online, 2017, 35:494-510.
- [5] 刘辉, 吴克良, 赵海滨, 等. 卵母细胞成熟率与 ICSI 临床结局的关系分析[J]. 生殖医学杂志, 2016, 25:129-134.
- [6] Yu EJ, Ahn H, Lee JM, et al. Fertilization and embryo quality of mature oocytes with specific morphological abnormalities [J]. Clin Exp Reprod Med, 2015, 42:156-162.
- [7] 孙正怡. 卵子质量评估的意义和手段[J]. 生殖医学杂志, 2017, 26:399-402.

- [8] 赵海波. 促排卵药物对卵子、性激素及子宫内膜的影响[J]. 国外医学. 妇产科学分册, 1995, 22: 144-147.
- [9] 孙青, 李观贵, 熊风, 等. 常规精液检查及优化处理后的精液参数对常规 IVF 受精结局的预测价值[J]. 生殖医学杂志, 2016, 25: 787-793.
- [10] 倪运萍, 陈士岭, 王庆玲, 等. 不同参数不同来源精子行 ICSI 治疗后临床结局及出生缺陷的初步分析[J]. 南方医科大学学报, 2010, 30: 957-959.
- [11] Tavalae M, Kiani-Esfahani A, Nasr-Esfahani MH. Relationship between potential sperm factors involved in oocyte activation and sperm DNA fragmentation with intra-cytoplasmic sperm injection clinical outcomes [J]. Cell J, 2017, 18: 588-596.
- [12] 王晟, 邹艳荣, 贺占举, 等. 男性年龄与体外受精-胚胎移植治疗结局的相关性分析[J]. 中国性科学, 2016, 25: 90-94.
- [13] 王晶, 丛林, 曹云霞, 等. 原发不孕患者 IVF/ICSI 方案的选择[J]. 现代妇产科进展, 2008, 17: 579-581.
- [14] 李沛, 张静, 金萱. 体质量指数对不同年龄不孕女性体外受精结局的影响[J]. 中国组织工程研究, 2016, 20: 2212-2217.
- [15] Fawzy M, Emad M, Gad MA, et al. Comparing 36.5 degrees C with 37 degrees C for human embryo culture: a prospective randomized controlled trial [J/OL]. Reprod Biomed Online, 2018, 36: 620-626.
- [16] 黄国宁, 孙海翔. 体外受精-胚胎移植实验室技术[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2012.
- [17] Swain JE. Optimizing the culture environment in the IVF laboratory: impact of pH and buffer capacity on gamete and embryo quality [J/OL]. Reprod Biomed Online, 2010, 21: 6-16.
- [18] Nastri CO, Nobrega BN, Teixeira DM, et al. Low versus atmospheric oxygen tension for embryo culture in assisted reproduction: a systematic review and meta-analysis [J]. Fertil Steril, 2016, 106: 95-104.
- [19] Martinez CA, Nohalez A, Parrilla I, et al. The overlaying oil type influences in vitro embryo production: differences in composition and compound transfer into incubation medium between oils [J]. Sci Rep, 2017, 7: 10505.
- [20] Garor R, Shufaro Y, Kotler N, et al. Prolonging oocyte in vitro culture and handling time does not compensate for a shorter interval from human chorionic gonadotropin administration to oocyte pickup [J]. Fertil Steril, 2015, 103: 72-75.
- [21] 韩伟, 韩树标, 黄国宁. 人绒毛膜促性腺激素诱发排卵与受精[J]. 生殖医学杂志, 2012, 21: 546-547.
- [22] Dozortsev D, Nagy P, Abdelmassih S, et al. The optimal time for intracytoplasmic sperm injection in the human is from 37 to 41 hours after administration of human chorionic gonadotropin [J]. Fertil Steril, 2004, 82: 1492-1496.
- [23] 倪佳, 黄静, 柳胜贤, 等. HCG 后不同时间短时授精对常规体外受精妊娠结局的影响[J]. 中国优生与遗传杂志, 2014, 22: 117-118.
- [24] 殷宝莉, 贾楠, 姜李乐, 等. 注射 HCG 后不同授精时间对 ICSI 助孕临床结局的影响[J]. 生殖医学杂志, 2016, 25: 1059-1063.
- [25] Bols PE, Van Soom A, Ysebaert MT, et al. Effects of aspiration vacuum and needle diameter on cumulus oocyte complex morphology and developmental capacity of bovine oocytes [J]. Theriogenology, 1996, 45: 1001-1014.
- [26] Alpha Scientists in Reproductive Medicine and ESHRE Special Interest Group of Embryology. The Istanbul consensus workshop on embryo assessment: proceedings of an expert meeting [J]. Hum Reprod, 2011, 26: 1270-1283.
- [27] Zhang XD, Liu JX, Liu WW, et al. Time of insemination culture and outcomes of in vitro fertilization: a systematic review and meta-analysis [J]. Hum Reprod Update, 2013, 19: 685-695.
- [28] 中华医学会生殖医学分会第一届实验室学组. 人类体外受精-胚胎移植实验室操作专家共识(2016)[J]. 生殖医学杂志, 2017, 26: 1-8.
- [29] Yavas Y, Roberge S, Khamsi F, et al. Performing ICSI using an injection pipette with the smallest possible inner diameter and a long taper increases normal fertilization rate, decreases incidence of degeneration and trippronuclear zygotes, and enhances embryo development [J]. J Assist Reprod Genet, 2001, 18: 426-435.
- [30] Aletabi F. Denudation and sperm injection interval timing: impact on outcome of intracytoplasmic sperm injection [J]. Int J Womens Health, 2011, 3: 99-103.
- [31] Rienzi L, Ubaldi F, Anniballo R, et al. Preincubation of human oocytes may improve fertilization and embryo quality after intracytoplasmic sperm injection [J]. Hum Reprod, 1998, 13: 1014-1019.
- [32] Andrews MM, Fishel SB, Rowe PH, et al. Analysis of intracytoplasmic sperm injection procedures related to delayed insemination and ejaculated, epididymal and testicular spermatozoa [J/OL]. Reprod Biomed Online, 2001, 2: 89-97.
- [33] Moura BR, Gurgel MC, Machado SP, et al. Low concentration of hyaluronidase for oocyte denudation can improve fertilization rates and embryo quality [J]. JBRA Assist Reprod, 2017, 21: 27-30.
- [34] Tsai MY, Huang FJ, Kung FT, et al. Influence of polyvinylpyrrolidone on the outcome of intracytoplasmic sperm injection [J]. J Reprod Med, 2000, 45: 115-120.
- [35] Yanagida K, Katayose H, Hirata S, et al. Influence of sperm immobilization on onset of Ca(2+) oscillations after ICSI [J]. Hum Reprod, 2001, 16: 148-152.
- [36] Anifandis G, Dafopoulos K, Messini CI, et al. Effect of the position of the polar body during ICSI on fertilization rate and embryo development [J]. Reprod Sci, 2010, 17: 849-853.
- [37] Van Der Westerlaken LA, Helmerhorst FM, Hermans J, et al. Intracytoplasmic sperm injection: position of the polar body affects pregnancy rate [J]. Hum Reprod, 1999, 14: 2565-

- 2569.
- [38] Blake M, Garrisi J, Tomkin G, et al. Sperm deposition site during ICSI affects fertilization and development [J]. *Fertil Steril*, 2000, 73: 31-37.
- [39] Stoddart NR, Fleming SD. Orientation of the first polar body of the oocyte at 6 or 12 o'clock during ICSI does not affect clinical outcome [J]. *Hum Reprod*, 2000, 15: 1580-1585.
- [40] Javadian-Elyaderani S, Ghaedi K, Tavalae M, et al. Diagnosis of genetic defects through parallel assessment of PLCzeta and CAPZA3 in infertile men with history of failed oocyte activation [J]. *Iran J Basic Med Sci*, 2016, 19: 281-289.
- [41] 全国数据年度报告[R]. 中华医学会生殖医学分会(CSRM)辅助生殖技术数据上报系统. <http://59.110.12.46/home/SIndex>.
- [42] Rosen MP, Shen S, Dobson AT, et al. Oocyte degeneration after intracytoplasmic sperm injection: a multivariate analysis to assess its importance as a laboratory or clinical marker [J]. *Fertil Steril*, 2006, 85: 1736-1743.
- [43] Yavas Y, Roberge S, Khamsi F, et al. Performing ICSI using an injection pipette with the smallest possible inner diameter and a long taper increases normal fertilization rate, decreases incidence of degeneration and trippronuclear zygotes, and enhances embryo development [J]. *J Assist Reprod Genet*, 2001, 18: 426-435.
- [44] Rubino P, Vigano P, Luddi A, et al. The ICSI procedure from past to future: a systematic review of the more controversial aspects [J]. *Hum Reprod Update*, 2016, 22: 194-227.
- [45] Peultier AS, Freour T, Cazenave N, et al. [Fertilization failure in IVF and ICSI][J]. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)*, 2015, 44: 380-386.
- [46] Bhattacharya S, Maheshwari A, Mollison J. Factors associated with failed treatment: an analysis of 121, 744 women embarking on their first IVF cycles [J/OL]. *PLoS One*, 2013, 8: e82249.
- [47] De Rycke M, Belva F, Goossens V, et al. ESHRE PGD Consortium data collection XIII: cycles from January to December 2010 with pregnancy follow-up to October 2011 [J]. *Hum Reprod*, 2015, 30: 1763-1789.
- [48] Alpha Scientists In Reproductive Medicine. The Alpha consensus meeting on cryopreservation key performance indicators and benchmarks: proceedings of an expert meeting [J/OL]. *Reprod Biomed Online*, 2012, 25: 146-167.
- [49] 郑爱燕, 丁洁, 顾斌, 等. 玻璃化冷冻与程序化冷冻对胚胎发育潜能及临床结局的影响[J]. *生殖与避孕*, 2013, 33: 16-20.
- [50] Testart J, Lassalle B, Forman R, et al. Factors influencing the success rate of human embryo freezing in an in vitro fertilization and embryo transfer program [J]. *Fertil Steril*, 1987, 48: 107-112.
- [51] Alpha Scientists in Reproductive Medicine and ESHRE Special Interest Group of Embryology. Istanbul consensus workshop on embryo assessment: proceedings of an expert meeting [J/OL]. *Reprod Biomed Online*, 2011, 22: 632-646.
- [52] Koler M, Achache H, Tsafirir A, et al. Disrupted gene pattern in patients with repeated in vitro fertilization (IVF) failure [J]. *Hum Reprod*, 2009, 24: 2541-2548.
- [53] 2014 National Summary, IVF Success [Z]. Society For Assisted Reproductive Technology. http://www.sartcorsonline.com/rptCSR_PublicMultYear.aspx?reportingYear=2014 [Z].
- [54] Calhaz-Jorge C, de Geyter C, Kupka MS, et al. Assisted reproductive technology in Europe, 2012: results generated from European registers by ESHRE [J]. *Hum Reprod*, 2016, 31: 1638-1652.

[编辑:罗宏志]