



中华人民共和国国家标准

GB/T 25881—2010

牛 胚 胎

Bovine embryo

2011-01-10 发布

2011-06-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局 发布
中国国家标准化管理委员会

前 言

本标准的附录 A 为规范性附录,附录 B 为资料性附录。

本标准由中华人民共和国农业部提出。

本标准由全国畜牧业标准化技术委员会归口。

本标准起草单位:北京锦绣大地农业股份有限公司、农业部种畜品质监督检验测试中心、北京科润维德生物技术有限责任公司。

本标准主要起草人:张红霞、郭丽丽、刘艳军、吴亦芳、刘丑生、孙秀柱、张向利、肖静、安晶、孟昭霞、郭敏、王月、刘佳新、徐敬趁、李继成、王刚、李海洋、沈录智、曹克富、刘颖。

牛 胚 胎

1 范围

本标准规定了牛胚胎的生产要求、抽样、检测与判定以及包装、标识、贮存和运输等相关内容的技术要求。

本标准适用于奶牛、兼用牛、肉牛的胚胎产品。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件,其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本标准,然而,鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件,其最新版本适用于本标准。

GB/T 2828.1—2003 计数抽样检验程序 第1部分:按接收质量限(AQL)检索的逐批检验抽样计划

GB/T 2828.2—2008 计数抽样检验程序 第2部分:按极限质量(LQ)检索的孤立批检验抽样方案

GB/T 2828.11—2008 计数抽样检验程序 第11部分:小总体声称质量水平的评定程序

GB 4143—2008 牛冷冻精液

GB/T 5458 液氮生物容器

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

3.1

超低温保存 cryopreservation

经特殊方法处理的胚胎放置于 -196°C (液氮)的超低温中,使其新陈代谢暂时停止,从而将胚胎进行长期保存。

3.2

胚胎解冻 embryo thawing

将冷冻保存的胚胎按一定的程序和方法在空气和水浴中融化,并脱除或不脱除冷冻保护剂(如乙二醇),使胚胎恢复正常的形态和新陈代谢的过程。

3.3

胚胎体外培养 *in vitro* embryo culture

在模拟体内的环境和条件下,胚胎在体外继续发育的过程。

3.4

胚胎移植 embryo transfer

将体内或体外生产的胚胎移植到受体母畜生殖道内,使其继续发育成正常个体的一种繁殖技术。

4 生产要求

4.1 种母牛

应具有种用价值,体质健康,无遗传病,无传染病。

4.2 种公牛和精液

种公牛应具有种用价值,体质健康,无遗传病,无传染病,其冷冻精液应符合 GB 4143—2008 的规定。

4.3 系谱资料

胚胎应具有完整的系谱资料。

4.4 牛胚胎发育阶段划分及编码标准

4.4.1 牛胚胎发育阶段划分见表 1。

表 1 牛胚胎发育阶段划分

发育阶段	形态描述
早期桑椹胚(5 d~6 d)	在 16 细胞~32 细胞之间,形似桑椹,体积占透明带内腔 50%~60%
致密桑椹胚(6 d~7 d)	在 32 细胞~64 细胞之间,细胞团变小,界限不明显,体积占透明带内腔 60%~70%
早期囊胚(7 d~8 d)	64 细胞及以上,内细胞团的一部分出现发亮的囊胚腔,体积占透明带内腔 70%~80%,难以分清内细胞团和滋养层
囊胚(7 d~8 d)	内细胞团和滋养层界限清晰,囊胚腔明显,细胞团体积充满透明带内腔
扩张囊胚(8 d~9 d)	囊胚腔明显扩大,体积增大到原来的 1.2 倍~1.5 倍,与透明带之间无空隙,透明带变薄,相当于正常厚度的 1/3
孵化囊胚(9 d~11 d)	由于囊胚腔继续扩大,致使透明带破裂,细胞团脱出

4.4.2 胚胎发育阶段编码标准见附录 A。

4.5 牛胚胎分级评定

牛胚胎分级评定标准见表 2,胚胎分级图片参见附录 B。

表 2 牛胚胎分级评定标准

质量分级	评定标准
A 级	胚胎形态完整,轮廓清晰,呈球形,卵裂球大小均匀,结构紧凑,色调和透明度适中,胚胎细胞团呈均匀对称的球形,单个卵裂球(或细胞)的大小、颜色、密度一致,胚胎的发育阶段与预期的发育阶段一致。透明带光滑,不规则的细胞相对较少,变性细胞不高于 10%
B 级	轮廓清晰,色调及细胞密度良好,胚胎细胞团的大小和形状以及细胞的颜色和密度存在一定的不规则,有小部分游离细胞,胚胎的发育阶段与预期的发育阶段基本一致,变性细胞的比例为 10%~20%
C 级	胚胎细胞团的大小和形状以及细胞的颜色和密度存在严重的不规则。轮廓不清晰,色调发暗,结构较松散,游离的细胞或泡液较多,变性细胞的比例为 30%~40%
D 级	死亡或退化的胚胎,有碎片、轮廓不清晰、结构松散,变性细胞比例高于 50%

4.6 胚胎质量要求

胚胎产品冷冻前后的质量均应达到 B 级(含 B 级)以上为合格。

4.7 冷冻胚胎细管外观

细管无变形,无裂痕,两端封口严密,标识完整。

5 抽样

5.1 生产方抽样检验

生产方和使用方为质量保证概率把关,按照 GB/T 2828.2—2008 中的第 4 章,采用极限质量(LQ=31.5),模式 A 抽样方案检索一次抽样方案确定抽检牛胚胎的样本量。

5.2 质量监督抽样检验

质量监督抽样检验按照 GB/T 2828.11—2008 中的第 6 章,该群体母牛胚胎为一核查总体,声称质量水平采用 DQL=4,用第 O 检验水平抽样方案确定抽检母牛(胚胎)的样本量。

5.3 复检和仲裁检验

复检根据原抽样方案确定,仲裁需抽样按照 5.2 规定的方案和 6.6 的判定规则。

6 检测与判定

6.1 细管外观

用目测法,其结果应符合 4.7 中的规定。

6.2 新鲜胚胎

胚胎形态、质量分级评定结果应符合 4.5 中的规定。

6.3 冷冻胚胎

6.3.1 冷冻胚胎解冻方法

6.3.1.1 器材

恒温水浴锅、实体显微镜。

6.3.1.2 胚胎解冻液

含 6%甘油,0.1 mol/L 蔗糖 PBS 胚胎解冻液;

含 3%甘油,0.1 mol/L 蔗糖 PBS 胚胎解冻液;

不含甘油,0.1 mol/L 蔗糖 PBS 胚胎解冻液;

PBS 保存液。

6.3.1.3 方法

6.3.1.3.1 甘油冷冻胚胎解冻

将胚胎细管空气浴 10 s 后置于 35℃~37℃水浴中,浸浴至胚胎冷冻细管彻底溶化。

将胚胎依次移入含 6%甘油、0.1 mol/L 蔗糖 PBS 胚胎解冻液,含 3%甘油、0.1 mol/L 蔗糖胚胎 PBS 解冻液,不含甘油、0.1 mol/L 蔗糖 PBS 胚胎解冻液中,各停留 5 min,最后用 PBS 保存液洗 3 次,即可进行镜检。

6.3.1.3.2 乙二醇冷冻胚胎解冻

将胚胎细管空气浴 10 s 后置于 35℃~37℃水浴中,浸浴至胚胎冷冻细管彻底溶化,用 PBS 保存液洗 3 次,即可进行镜检。

6.3.2 冷冻胚胎质量评定

胚胎形态、质量分级评定结果应符合 4.4 及 4.5 中的规定。

6.4 型式检验

检验项目及标准见 4.1~4.7,是在生产方抽样检验、质量监督抽样检验和复检、仲裁检验时所选定的检验。样品所检验项目中任何一项检验未达到本标准中技术要求的规定,则判为不合格。

6.5 检验项目及检验周期

每生产批入库、出站检验。

6.6 抽样检验对群体质量水平的判定

6.6.1 生产抽样检验的判定

引用 GB/T 2828.1—2003 第 3 章中 Ac 为接收数,Re 为拒收数,d 为不合格品数。

对抽取样本检验,按 GB/T 2828.2—2008 中 5.2 的规定,当 $d \leq Ac$,则判可接收,当 $d \geq Re$,则判不可接收。

6.6.2 质量监督抽样的判定

对抽取样本检验,按 GB/T 2828.11—2008 中 6.10 的规定,当 $d < L$ (不合格品限定数),则抽检样

本符合要求,判定核查通过,当 $d \geq L$,则抽检样本不符合要求,判核查总体不合格。

7 包装、标识、贮存和运输

7.1 包装与标识

7.1.1 细管材料应无毒、耐低温,细管规格以 0.25 mL 为宜。细管外观应符合 4.7 的规定。

7.1.2 细管应有明确的标记,注明品种、数量、发育阶段、质量级别、父母品种及注册号、生产日期、生产单位等,标志上的字迹清晰、完整、准确,并做好存放记录。胚胎发育阶段以编码表示,见附录 A 的规定。

7.2 贮存与运输

7.2.1 贮存冻胚和液氮的生物容器,均不可叠放。用液氮生物容器贮存时,细管应完全浸没到液氮中。液氮容器应符合 GB/T 5458 中的规定。

7.2.2 移动液氮生物容器时,应轻拿轻放,防止冲撞、震动和倾倒。

7.2.3 冻胚运输时,应有专人负责,途中应及时检查和补充冷源(液氮)。运输过程中注意防挤压、防冻、防雨淋、防晒、通风散热。

附 录 A
(规范性附录)
胚胎发育阶段编码标准

A.1 引言

本附录给出了不同发育阶段的数字编码。

A.2 原则和方法

对不同发育阶段的胚胎,以阿拉伯数字编码。

示例:胚胎发育在1细胞(1 d)时,编码为1。

A.3 编码

不同发育阶段的胚胎编码见表 A.1。

表 A.1 不同发育阶段的胚胎编码

发育阶段	数字编码
1 细胞(1 d)	1
2 细胞(2 d);4 细胞(3 d);8 细胞(4 d);16 细胞(5 d)	2
早期桑椹胚(5 d~6 d)	3
致密桑椹胚(6 d~7 d)	4
早期囊胚(7 d~8 d)	5
囊胚(7 d~8 d)	6
扩张囊胚(8 d~9 d)	7
孵化囊胚(9 d~11 d)	8

附 录 B
(资料性附录)
胚 胎 图 片

B.1 导言

本附录给出了通用的胚胎形态参考图片。

B.2 胚胎形态图片

B.2.1 致密桑椹胚

不同质量等级的致密桑椹胚见图 B.1~图 B.3。

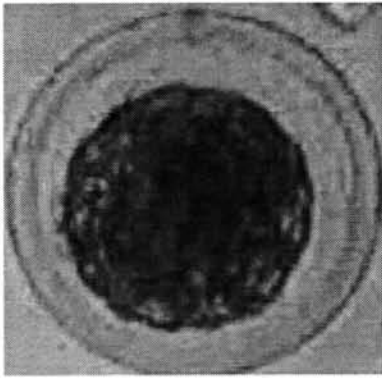


图 B.1 胚胎质量:A

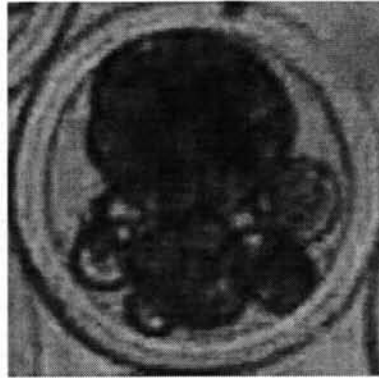


图 B.2 胚胎质量:B

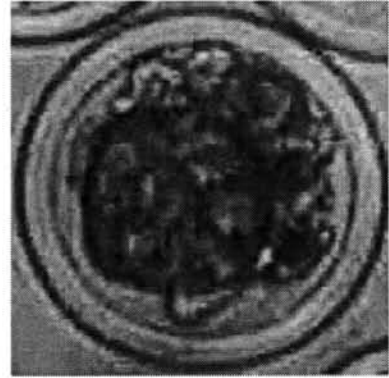


图 B.3 胚胎质量:C

B.2.2 囊胚

不同质量等级的囊胚见图 B.4~图 B.6。

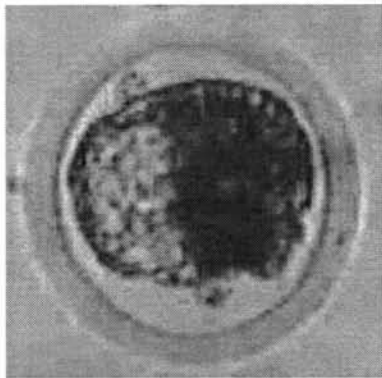


图 B.4 胚胎质量:A

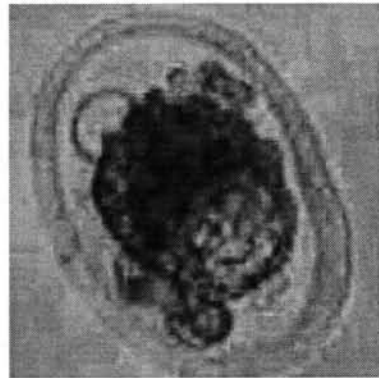


图 B.5 胚胎质量:B

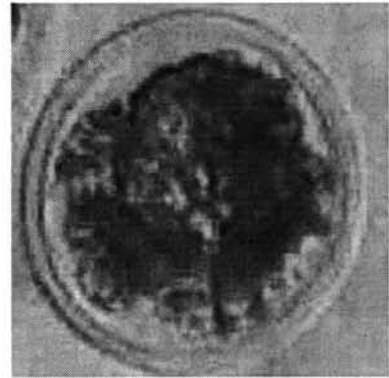


图 B.6 胚胎质量:C