

染色体异常和显性单基因病同步无创产前筛查  
临床应用指南  
编制说明

复旦大学附属妇产科医院

2026年04月28日



# 目 次

1	任务来源.....	1
2	标准制订的背景和目的.....	1
3	标准主要编制过程及计划.....	2
4	标准编制的基本原则.....	3
5	标准制定目标.....	3
6	伦理要求.....	3
7	标准的框架内容.....	3
	7.1 目标疾病.....	3
	7.2 检测前知情告知和检测前咨询.....	4
	7.3 单基因变异解读.....	5
	7.4 质量控制.....	5
	7.5 筛查报告内容.....	5
	7.6 意外发现.....	6
	7.7 检测后遗传咨询及随访.....	6
	7.8 标本、资料信息与数据的保存.....	7
8	标准的方法学验证.....	8
	8.1 对实验技术方法学的验证.....	8
	8.2 对质量控制指标的验证.....	10
	8.3 对临床应用流程的验证.....	13
9	采用国内外标准情况.....	14
10	与有关的现行法律、法规和强制性国家标准的关系.....	14
11	重大分歧意见的处理经过和依据.....	14
12	标准作为团体标准发布的意见.....	14
13	其他事项说明.....	14
附件 1	复旦大学附属妇产科医院 NIPT2.0 项目性能验证报告.....	15
附件 2	广东省妇幼保健院 NIPT2.0 项目性能验证报告.....	26
附件 3	四川大学华西第二医院 NIPT2.0 项目性能验证报告.....	35
附件 4	成都华西妇幼医学检验实验室 NIPT2.0 项目性能验证报告.....	46
附件 5	NIPT2.0 前瞻性临床研究阶段性总结报告.....	55



# 染色体异常和显性单基因病同步无创产前筛查

## 临床应用指南

### 编制说明

#### 1 任务来源

本标准由“十四五”国家重点研发计划专项“多种类型遗传疾病的无创产前同步式筛查新技术与临床研究”（2023YFC2705600）等项目课题支持。

2025年05月，牵头起草单位复旦大学附属妇产科医院向中国遗传学会提交团体标准立项申请。

本标准主要起草单位包括复旦大学附属妇产科医院、浙江大学医学院附属妇产科医院、首都医科大学附属北京妇产医院、四川大学华西第二医院、广东省妇幼保健院、中国医学科学院北京协和医院、香港中文大学妇产科学系、北京博昊云天科技有限公司 8 家单位。目前参与修改单位包括郑州大学第三附属医院、四川省妇幼保健院、四川省人民医院、成都市妇女儿童中心医院、云南省第一人民医院、昆明医科大学第一附属医院、合肥市妇幼保健院、中国科学技术大学附属第一医院、深圳市妇幼保健院、东莞市妇幼保健院、湖北省妇幼保健院、湖南省妇幼保健院、江西省妇幼保健院、南昌大学第一附属医院、广西壮族自治区妇幼保健院、中国医科大学附属盛京医院、沈阳市妇婴医院、济南市妇幼保健院、苏州市立医院、石家庄市第四医院、遵义市妇幼保健院、郑州大学第一附属医院等等 45 家单位。

#### 2 标准制订的背景和目的

出生缺陷是影响我国人口质量的重要因素。有研究显示，2%~4%的活产儿存在出生缺陷，15%~25%的出生缺陷是由遗传性疾病所致，其中染色体异常和单基因病为最主要的类型。

基于母体外周血胎儿游离 DNA 的无创产前筛查技术已在全球得到了广泛的应用，成为染色体非整倍体产前筛查的重要手段。2023 年美国医学遗传学与基因组学学会（American College of Medical Genetics and Genomics, ACMG）在其发布的指南中，强烈建议对所有单胎和双胞胎妊娠孕妇进行胎儿 21 三体、18 三体和 13 三体的无创产前筛查，而非传统血清学筛查方法，并强烈建议为孕妇提供胎儿性染色体非整倍体无创产前筛查。近年来，无创产前筛查技术向染色体微缺失/微重复综合征筛查方向扩展，并逐渐在临床得到推广；然而，该技术对部分染色体异常仍存在检测准确性不足的缺陷，尤其是对 13 三体、性染色体异常和部分小片段微缺失/微重复综合征检测的阳性预测值（positive predictive value, PPV）较低。基于当时的技术水平和临床研究证据，2023 年 ACMG 指南仅对 22q11.2 缺失综合征的无创产前筛查给出条件性推荐，明确不推荐对其他任何染色体拷贝数变异（copy number variation, CNV）开展筛查，并且未涉及单基因病相关筛查内容。

单基因病的综合发病率高达 1%，也是导致出生缺陷的重要病因，严重危害人类的生命和健康。其中，显性单基因病占全部单基因病的 53%。60%~80%的显性单基因病是由新发变异所致。夫妇高龄是新发变异的高风险因素之一，子代携带新发变异的数量将随亲代年龄的增长而增加。有研究显示，父亲年龄>40 岁或母亲年龄>35 岁，子代将具有更高的风险发生新发变异。对新发变异导致的显性单基因病进行产前筛查，是出生缺陷防控的重要手段。

随着测序技术的发展，借助高通量测序技术实现了对染色体异常和显性单基因病的同步无创产前筛查（以下简称“NIPT2.0”），并在临床展开应用，结果证实其具有重要的临床价值。

有报道显示，NIPT2.0 具有很高的筛查效率和准确性。在《Nature Medicine（自然·医学）》杂志上发表的一项以高风险孕妇为目标人群的多中心前瞻性临床研究中，相较于传统的仅针对染色体异常的筛查，NIPT2.0 技术将目标单基因病与染色体异常同时纳入筛查范围，使致病性遗传变异的检出率提高了 60.7%。在入组的传统无创产前筛查提示胎儿染色体病高风险的孕妇中，NIPT2.0 可将 PPV 从 40.7%提高到 85.4%。NIPT2.0 可以提供更全面的胎儿遗传病风险评估。对于此前只能在孕晚期通过超声筛查发现的诸如软骨发育不全等或者无明显超声异常的常染色体显性单基因病，NIPT2.0 能够在更早的孕周时了解胎儿患病的风险，帮助临床及早决策。

为了规范 NIPT2.0 的临床应用，中国妇幼保健协会生育保健分会牵头组织发布了《新一代无创产前筛查技术 NIPT2.0 临床应用策略专家共识》[中华医学遗传学杂志, 2024, 41(10).]。然而据调研，目前 NIPT2.0 暂无相关国家标准及行业标准，也无国际标准，缺乏相应的管理和规范指导文件。随着专家共识的发布及社会对单基因病的关注，NIPT2.0 的应用越来越广泛，急需相关标准对其进行规范统一。

由中国遗传学会联合复旦大学附属妇产科医院牵头，国内多家产前诊断中心参与，就此技术的全流程临床规范应用细节达成技术层面共识，完成了本标准的建立，以期达到规范应用 NIPT2.0 技术的目的。本标准的建立对于 NIPT2.0 基因检测具有重要参考价值，可有效填补国内外该领域的标准空白。此外，本标准对于 NIPT2.0 在国内外的示范应用推广也具有指导意义。

### 3 标准主要编制过程及计划

本标准的制定工作计划如下：

2025 年 02 月 — 2025 年 05 月，**前期准备**。广泛征集标准起草工作组专家成员，广泛征求标准制定的建议和意见，初步确定标准编制的原则和标准的框架内容。2025 年 05 月，向中国遗传学会提交团体标准立项申请。2025 年 05 月 18 日，组织了来自全国 31 个省、自治区、直辖市的 53 家单位参与的团体标准专家研讨会，66 位专家共计提出 79 项建议和意见。

2025 年 06 月，**立项**。中国遗传学会组织召开团体标准立项评审会，完成立项评审，形成立项评审和论证建议。2025 年 12 月，取得立项审批。

2025 年 06 月 — 2025 年 07 月，**起草**。编制标准草案，工作组骨干搜集相关文献资料，撰写形成工作组讨论稿。

2025 年 07 月 — 2026 年 03 月，召开 4-6 次工作组会议，及时交流工作进展，对问题进行研讨，汇总各方面的意见和建议，在充分考虑和吸纳之后形成**征求意见稿**和**编制说明**。

2026 年 04 月，**征求意见**。依托中国遗传学会向社会公开及定向征求意见。对征集的意

见进行归纳整理，分析研究和处理后，对标准征求意见稿进行修改，形成送审讨论稿。

2026年05月，完成标准方法学验证。

2026年05月，召开专家研讨会，对争议问题进行解决（必要时重新征求意见）；根据研讨意见修改，形成送审稿。

2026年06月，技术审查。向中国遗传学会标准化技术委员会送审，等待组织技术审查，召开审查会议，形成审查结论。

2026年06月，根据技术审查专家组提出的意见予以修改，形成报批稿。

#### 4 标准编制的基本原则

本标准按照 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》的规定起草。

本标准符合《中华人民共和国标准化法》、《团体标准管理规定》、《上海市标准化条例》、《上海市实施〈团体标准管理规定〉办法》及《孕妇外周血胎儿游离DNA产前筛查与诊断技术规范》（国卫办妇幼发〔2016〕45号）等法律、法规和部门规章的要求。

本标准的编写原则为：（1）遵守国家有关法律、法规、强制性标准的相关要求；（2）符合科技发展方向，有利于促进科学技术进步和推动科技成果转化；（3）开放、透明、公平、协商一致；（4）协调融合、有序优化、技术先进，经济合理。

#### 5 标准制定目标

本文件规定了基于孕妇外周血游离DNA的染色体异常和显性单基因病同步无创产前筛查（NIPT2.0）技术在临床应用，筛查的目标疾病、检测前知情告知和检测前咨询、单基因变异解读、质量控制（包括对假阳性、假阴性结果及检测失败标本的分析）、筛查报告常规内容、意外发现、检测后遗传咨询及随访、标本、资料信息与数据的保存等的技术要求。本文件所述“NIPT2.0技术”是指具有以下要素特征的同步筛查胎儿的染色体异常和显性单基因病的技术：使用同一管孕妇外周血作为检测样本，通过同一种方法学进行同一次实验且进行同一次分析。

本文件适用于基于孕妇外周血游离DNA的胎儿染色体非整倍体、微缺失综合征和显性单基因病同步无创产前筛查检测。

#### 6 伦理要求

遵守相关法律、法规和部门规章的要求，在取材和检测前获得患者的知情同意，并仅在已通过项目伦理审查的单位进行。

#### 7 标准的框架内容

##### 7.1 目标疾病

总体原则：宜优先考虑对发病率高、后果严重、基因型与表型关联明确的疾病进行检测。对这些疾病进行筛查，能够提供重要的生育决策信息，同时有助于改善围产期的管理与治疗，

从而改善患者的生活质量。

——**染色体非整倍体**：目标疾病至少应包含 21 三体综合征、18 三体综合征和 13 三体综合征。可检测的胎儿染色体非整倍体包括另外 7 种（详见标准 5.2，表 1）。发现性染色体异常，不宜报告具体的异常核型，宜统一报告为“性染色体异常”。

——**染色体微缺失综合征**：参照 T/GDPMAA 0004—2020 中建议的依据，制定目标疾病的纳入标准，12 种常见微缺失综合征（详见标准 5.3，表 2）相对发病率高、后果严重，基因型与表型的关联较为明确，目前数据积累证明其 NIPT 筛查效能较好，宜纳入目标疾病并常规报告。发现纯合性区域（region of homozygosity, ROH），除非具有明确临床意义，宜不予报告。

——**显性单基因病**：疾病选择原则包括发病率较高、表型严重（如致死、严重致畸、致残、严重影响生活质量/寿命等）、基因和疾病关系明确、检测方法对目标基因具有高检测准确性等。宜优先考虑对早期发病的疾病进行筛查；不宜选择成年期发病及外显率低、表型异质性较大的疾病。即使检测结果有助于子代的健康管理，也应非常慎重地选择。根据目前已有的证据，所列举的基因及其导致的 39 种显性单基因病（详见标准 5.4，表 3）相对较为重要，宜纳入目标疾病并常规报告。

## 7.2 检测前知情告知和检测前咨询

### 7.2.1 临床适用范围

——**适用人群**：本检测适用于孕周为 12<sup>+0</sup> 周及以上的单胎妊娠孕妇，含通过体外受精-胚胎移植（IVF-ET）方式单胚胎移植受孕并成功妊娠的孕妇。适宜的筛查检测孕周为 12<sup>+0</sup>~22<sup>+6</sup> 周。

——**慎用人群**：有规定情形的孕妇为慎用人群，当目标胎儿个体的胎儿百分比能够达到最低检测限要求时，检测结果是准确可靠的，反之，则检测的检出率、假阳性率、失败率等较适用人群存在效能下降的情况；或按有关规定应建议其进行产前诊断的情形。（详见标准 6.1.2）

——**不适用人群**：有规定情形的孕妇进行检测时，可能严重影响结果准确性，或按有关规定应进行产前诊断。（详见标准 6.1.3）

### 7.2.2 检测前咨询

应充分重视检测前的咨询，医师应告知孕妇 NIPT2.0 的适用范围、局限性和检测后可能的医学流程，使孕妇及其家属在充分知情的前提下进行自主选择。

——应详细了解孕妇的个人史、既往史、孕产史、遗传病家族史等，准确判断孕妇是否属于适用人群；

——应详细告知孕妇及其亲属检测的意义、适用人群、目标疾病、检测的准确性、检测方法、费用、检测周期、局限性及相关风险等。应告知检测后遗传咨询和干预的详细流程。应告知对阳性结果进行产前诊断确认的必要性。应强调检测结果未见明显异常时，仍无法排除胎儿患病的可能性，孕妇应按时进行后续的常规产前检查；

——应告知局限性，包括可能影响检测结果的因素（详见标准 6.2.2.3）；

——应告知可能的意外发现；

——应告知孕妇，医疗机构或检测机构将对其妊娠结局进行随访；

——应告知孕妇，可供选择的其它检查；

——应在充分告知的前提下，由孕妇及其亲属自愿选择，签署知情同意书和保险知情同意书等文件。

### 7.2.3 检测申请单和知情同意书签署

规定了检测申请单和知情同意书应涵盖的内容。

## 7.3 单基因变异解读

完成实验室检测及数据分析后，对于通过单基因质控且软件判读出的单基因位点变异：

——NIPT2.0 数据库报告且确认过的评级为致病的（pathogenic, P）或可能致病的（likely pathogenic, LP）的变异，应报告；

——对新出现的变异，按 ACMG 最新指南进行解读和致病性分类，评级为 P 或 LP 的变异，可以报告，不应报告评级为临床意义不明确的（variant of uncertain significance, VUS）、可能良性的（likely benign, LB）及良性的（benign, B）的变异；

——对于评级为 P 或 LP，且变异等位基因频率显著高于按胎儿浓度推算的胎源杂合预期范围并超过本方法学验证阈值的变异（如大于 3 个标准差），应提示可能存在母体携带，建议结合母体外周血验证，并行产前诊断确认胎儿情况；

——对于解读为 P 或 LP 的变异位点，应使用同一采血管的母亲白细胞，提取 DNA 后进行相同的检测验证；如果孕妇本人携带胚系突变的杂合位点，则胎儿有 50% 的风险，应建议产前诊断明确胎儿基因型；如果孕妇本人白细胞低比例嵌合，胎儿也存在一定的风险，应结合具体的胎儿的家族病史和本次妊娠的超声指征，判断胎儿患病的风险，宜建议产前诊断；

——应定期按 ACMG 准则复评 VUS 分类变异，如果是 6 个月之内评级为 VUS 的变异，无须重新评级；如果超过 6 个月再次遇到，应重新进行变异评级。实验室应引入多学科团队审核阳性结果，确保报告解读一致性。

## 7.4 质量控制

对质量控制指标、全流程质量控制要求、检测数据及验证结果的统计及分析、假阳性和假阴性结果分析、对检测失败标本的数据分析及随访结果汇总等规定了技术要求。

例如，其中对质量控制指标的要求：

——染色体非整倍体：21 三体综合征检出率不低于 95%，18 三体综合征检出率不低于 85%，13 三体综合征检出率不低于 70%；21 三体综合征、18 三体综合征、13 三体综合征的复合假阳性率不高于 0.5%；复合阳性预测值不低于 50%（参照国卫办妇幼发〔2016〕45 号）。全部目标染色体非整倍体复合检出率不低于 90%；复合假阳性率不高于 0.5%；复合阳性预测值不低于 50%。

——染色体微缺失综合征：目标染色体微缺失综合征的复合检出率不低于 70%；复合假阳性率不高于 0.5%；复合阳性预测值不低于 40%。

——单基因病：目标显性单基因病的复合检出率不低于 80%；复合假阳性率不高于 0.5%；复合阳性预测值不低于 50%。

——由于凝血、溶血、DNA 质量控制不合格等标本原因造成的检测失败率不超过 5%（参照国卫办妇幼发〔2016〕45 号）。

## 7.5 筛查报告内容

对筛查报告的必要内容做出规定，包含检测方法、筛查的目标疾病明细清单、方法局限性和残余风险、遗传咨询意见等做出要求。

例如，对筛查报告中的遗传咨询意见做出以下规定：

——低风险结果遗传咨询意见：检测结果为“未见明显异常”，提示胎儿患检测目标疾病的风险较低，但仍不排除胎儿患病可能性，应当依据其它临床检测的结果进行临床决策，本检测不能替代现有的胎儿系统超声检查及其它产前检查。

——高风险结果遗传咨询意见：检测到\*\*\*变异，检测结果提示胎儿为\*\*\*（疾病名称）高风险（对变异和疾病进行介绍），应进行介入性产前诊断，并依据产前诊断结果进行遗传咨询和临床决策。

## 7.6 意外发现

对报告意外发现应事先经过知情同意、可能存在限制性胎盘嵌合、其他常染色体三体高风险、性染色体异常、其他微重复综合征、母源 CNV、LOH 或母亲为显性单基因病携带者等做出要求。

## 7.7 检测后遗传咨询及随访

对筛查低风险报告的遗传咨询、筛查高风险报告的遗传咨询、报告发放后的随访等做出要求。

### 7.7.1 筛查低风险报告的遗传咨询

——无论筛查检测结果如何，均应在检测后进行遗传咨询。在充分分析胎儿的检测结果以及孕妇的临床信息后，告知孕妇检测的结果、相应的诊疗措施以及可能的后续检测项目。遗传咨询应由具备相关资质的医师提供或通过多学科会诊完成。

——对检测范围内未见明显异常者，需详细解释结果的意义并强调仍无法排除胎儿患病的可能性。筛查目标疾病不能覆盖所有的遗传疾病，胎儿可能存在 NIPT2.0 目标疾病之外的遗传疾病，如果后期超声发现问题仍需要进行产前诊断。

——应强调检测结果不能作为最终的产前诊断结果，要求孕妇按时进行后续的常规产前检查，并依据其他检测的结果进行临床决策。应强调本检测无法替代现有的胎儿系统超声检查及其他产前检查。

——若同时存在胎儿影像学检查异常，则应为其提供充分的遗传咨询并决定是否需进行相应的产前诊断。

——应强调 NIPT2.0 存在局限性，假阴性结果不能完全避免。

### 7.7.2 筛查高风险报告的遗传咨询

——对检测结果提示高风险者，应尽快通知孕妇，促使其接受后续的遗传咨询和介入性产前诊断，并依据结果提供遗传咨询和临床决策。不应仅根据 NIPT2.0 检测的高风险结果提出直接终止妊娠的建议和处理。

——应讨论产前诊断的选项，如羊水穿刺或脐静脉穿刺取样等，告知所述各类方法的优点和风险，及其提供确定性结果的机制。

——应为受检者提供支持，并帮助其了解所有可能的选项，包括（1）若经产前诊断证实 NIPT2.0 筛查结果为假阳性，则可继续妊娠，并按常规进行孕期检查；（2）对于经产前诊断确诊者（真阳性），宜综合评估胎儿基因型、疾病特征（如严重程度、异质性、孕期是否

出现相关表型及其发生时间、现有治疗方案等),并结合其他孕检的异常结果,审慎选择继续妊娠(宜加强孕期超声随访,密切监测异常表型)或终止妊娠等决策。

——对筛查结果为染色体异常高风险者,可按产前诊断机构现有流程选择适宜的产前诊断方法[包括染色体核型分析、染色体微阵列分析(chromosomal microarray analysis, CMA)、基因组拷贝数变异测序(copy number variation sequencing, CNV-seq)、荧光原位杂交(fluorescence in situ hybridization, FISH)、多重连接探针扩增(multiple ligation-dependent probe amplification, MLPA)和荧光定量PCR等]和后续的遗传咨询。

——对于筛查结果提示为胎儿显性单基因病高风险者,或母体为评级为P或LP的单基因变异携带者,可选择适宜的产前诊断方法[包括Sanger测序或全外显子测序(whole exome sequencing, WES)]。必要时,可按产前诊断机构现有流程选择进行家系检测,检测胎儿父亲的基因型,以判断是否为新发变异。对经产前诊断确诊者(真阳性),在遗传咨询时应充分与孕妇及其家属讨论可能的选项,之后由其自主决策。

——对于报告评级为P或LP的母源CNV的,除了对胎儿进行产前诊断外,可在知情同意情况下,抽取孕妇外周血对孕妇进行相关检测诊断。

——应强调NIPT2.0存在局限性,假阳性结果不能完全避免。

### 7.7.3 报告发放后的随访

——随访内容:宜建立完善的随访体系,随访妊娠结局以及胎儿出生后的情况。随访机制应兼顾隐私保护、信息安全及回访效率,宜采用电子系统并附有安全说明。随访内容应包括:后期流产、引产、早产或足月产、死产、死胎等妊娠结局,是否为检测目标疾病范围内的患儿。有条件者可将后期流产、死胎的遗传诊断结果纳入妊娠结局的随访内容。

——随访时间:随访时间应根据检测结果分阶段进行。高风险结果应在报告发出后尽快随访召回产前诊断(一般建议报告发出后2天内通知);高风险结果应在报告发出后1~3个月(根据检测时孕周计算)随访问产产前诊断结果。高风险(产前诊断后选择继续妊娠、分娩的)和低风险结果均应在胎儿分娩后12周(根据检测时孕周计算)随访妊娠结局,宜随访至胎儿分娩后1年。

——数据总结:应及时汇总分析单位时间内的检测数据,计算对各个目标疾病的筛查灵敏度、特异性、阳性预测值和阴性预测值等及其复合指标。

### 7.8 标本、资料信息与数据的保存

采血机构负责保存知情同意书,产前诊断机构负责保存检测申请单第一联。检测机构负责保存检测申请单第二联、实验室检测核心数据信息和剩余标本。标本、信息和资料的保存期限应不少于3年。

剩余的血浆标本、DNA样本应当在-70℃以下保存不少于3年,避免反复冻融。

医疗机构应当严格保护孕妇隐私,避免泄漏受检者信息,采取措施确保信息安全。检测数据应当进行安全备份,并与互联网物理隔离。可追溯原始序列的核心数据保存应当不少于3年。

## 8 标准的方法学验证

对本标准的技术要求及相关活动开展方法学验证，包括通过在多家医疗机构开展NIPT2.0全流程性能验证实验对实验技术方法学进行验证，通过NIPT2.0前瞻性临床研究对质量控制指标进行验证，以及通过问卷调查对临床应用流程进行验证，以确保本标准的可行性。

### 8.1 对实验技术方法学的验证

按照标准化对象分类，本标准属于**过程标准**（见GB/T 1.1-2020，4.2），其标准化对象为“染色体异常和显性单基因遗传病同步无创产前筛查临床应用”；按照标准编制目的分类，本标准属于**技术标准**，即其编制目的为保证标准化对象的可用性、兼容性、相互配合等目的（见GB/T 1.1-2020，5.3.3）；按照标准内容分类，本标准属于**指南标准**（而非试验标准），即以适当的背景知识提供普遍性、原则性、方向性的指导，同时给出相关建议或信息（见GB/T 1.1-2020，4.2）。

虽然本标准并非试验标准，并非以全面描述“染色体异常和显性单基因遗传病同步无创产前筛查（NIPT2.0）”的实验活动为主要内容，但本标准所标准化的“临床应用”都是围绕NIPT2.0实验活动而展开的，因此，有必要对“染色体异常和显性单基因遗传病同步无创产前筛查”的实验技术方法学本身进行验证。

#### 8.1.1 实验技术方法学验证方案

##### 8.1.1.1 概述

在三家或以上的医疗机构开展NIPT2.0全流程实验技术方法学性能验证，以确保其可行性和可重现性。

在每家医疗机构采用64例已知变异类型的回顾性样本，完成血浆游离DNA提取、文库构建、杂交捕获、环化以及测序上机等实验步骤，对NIPT2.0全流程实验技术方法学进行性能验证。

##### 8.1.1.2 实验材料

- a) **试剂**：孕妇外周血胎儿游离 DNA 染色体非整倍体、微缺失和单基因病检测试剂盒（靶向捕获-高通量测序法），生产厂家为北京博昊云天科技有限公司；该试剂盒采用靶向探针捕获目标染色体和单基因区域的 DNA 序列并结合高深度测序，检测可以造成严重出生缺陷的染色体非整倍体、染色体微缺失、显性单基因突变，实现了对胎儿基因组中 10 种染色体非整倍体疾病、13 种染色体微缺失综合征及 64 个基因 92 种显性单基因遗传病的筛查（注：涵盖本标准推荐的全部目标疾病）；
- b) **样本**：准备 64 例已知变异类型的回顾性样本（例如 64 例血浆样本，或 32 例血浆样本和 32 例环化产物），对 NIPT2.0 全流程实验技术方法学进行性能验证，其中血浆样本中阳性样本在试剂盒检测范围内，血浆样本的样本量分别为 1.8mL，状态无溶血；环化产物产量 >6ng 以上为合格，符合试剂盒的质控要求。

##### 8.1.1.3 实验流程及质量控制

- a) **实验流程**：按照《孕妇外周血胎儿游离 DNA 染色体非整倍体、微缺失和单基因病检测试剂盒（靶向捕获-高通量测序法）说明书》对准备好的血浆样本进行游离 DNA

提取、文库构建、杂交捕获以及环化等操作步骤，与准备好的环化产物（若有）一同进行上机测序；

- b) **质量控制**：各个步骤完成后应进行相应的质量控制，质控对象应符合表 1 所示的质控标准，每个实验步骤质检合格后方可进行下一步实验操作。

表1 室内质量控制具体指标

质控环节	质控对象	质控标准	不符合标准要求时应采取的措施
cfDNA 提取	提取后核酸	$0.3\text{ng}/\mu\text{L} \leq \text{核酸浓度} \leq 1\text{ng}/\mu\text{L}$	核酸浓度 $< 0.3\text{ng}/\mu\text{L}$ ，应重新提取；核酸浓度 $> 1\text{ng}/\mu\text{L}$ ，应进行凝胶电泳验证，若无目标条带，应重新提取或重新采血
文库构建	构建的文库	文库浓度 $\geq 16.7\text{ng}/\mu\text{L}$ 即文库产量 $\geq 500\text{ng}$	文库浓度 $< 16.7\text{ng}/\mu\text{L}$ 即文库产量 $< 500\text{ng}$ ，应重新建库
文库杂交捕获	捕获的文库	$15\text{ng}/\mu\text{L} \leq \text{文库浓度} \leq 44\text{ng}/\mu\text{L}$	文库浓度 $< 15\text{ng}/\mu\text{L}$ ，应重新进行文库杂交捕获；文库浓度 $> 44\text{ng}/\mu\text{L}$ ，排除实验异常原因后可继续
文库环化	环化产物	环化产物产量 $> 6\text{ng}$	环化产物产量 $\leq 6\text{ng}$ ，应重新环化
上机测序	DNB 产物	$8\text{ng}/\mu\text{L} < \text{DNB 产物浓度} \leq 40\text{ng}/\mu\text{L}$	DNB 产物浓度 $\leq 8\text{ng}/\mu\text{L}$ ，应重新制备 DNB；DNB 产物浓度 $> 40\text{ng}/\mu\text{L}$ ，应稀释至 $20\text{ng}/\mu\text{L}$ 后使用
	单条通道数据产出及 Q30	单条通道数据产出 $\geq 400\text{MB}$ 且 $Q30 \geq 85\%$	单条通道数据产出 $< 400\text{MB}$ 或 $Q30 < 85\%$ ，应重新上机测序

#### 8.1.1.4 结果比对及验证结论判定

将64例回顾性样本的NIPT2.0检测结果，与其已知的变异类型进行比对。64例回顾性样本，除了由于凝血、溶血、DNA 质量控制不合格等标本原因造成检测失败的样本外，若结果均与其已知的变异类型一致，则该次性能验证实验通过。

若在三家或以上的医疗机构开展的性能验证实验均通过，则NIPT2.0实验技术方法学验证通过。

#### 8.1.2 实验技术方法学验证结果

在复旦大学附属妇产科医院、广东省妇幼保健院、四川大学华西第二医院和成都华西妇孺医学检验实验室等四家医疗机构分别开展了NIPT2.0全流程实验技术方法学性能验证，性能验证报告详见附件1~附件4。四家医疗机构性能验证实验均通过。

#### 8.1.3 实验技术方法学验证结论

四家医疗机构性能验证实验均通过，即NIPT2.0实验技术方法学验证通过，证实NIPT2.0实验技术方法学具备可行性和可重复性。

## 8.2 对质量控制指标的验证

本标准的8.1章节，参考国卫办妇幼发〔2016〕45号《孕妇外周血胎儿游离DNA产前筛查与诊断技术规范》及T/GDPMAA 0004—2020《基于孕妇外周血浆游离DNA高通量测序无创产前筛查胎儿基因组疾病技术标准》，制定了NIPT2.0临床应用的质量控制指标，包括各目标疾病种类的临床灵敏度/检出率、假阳性率、阳性预测值及检测失败率的参数设置，需要验证其合理性和可行性。

### 8.2.1 质量控制指标验证方案

通过开展前瞻性临床研究，对本标准质量控制指标进行方法学验证。

前瞻性临床研究所采用的NIPT2.0筛查检测技术方法，涵盖了本标准推荐的全部目标疾病。试剂采用“孕妇外周血胎儿游离DNA染色体非整倍体、微缺失和单基因病检测试剂盒（靶向捕获-高通量测序法）”（北京博昊云天科技有限公司）。

前瞻性临床研究的临床应用流程，包括临床适用范围、检测前知情告知和检测前咨询、单基因变异解读、质量控制、筛查报告常规内容、意外发现、检测后遗传咨询及随访、标本、资料信息与数据的保存等，均符合本标准的技术要求。

前瞻性临床研究的技术路线如图1所示。

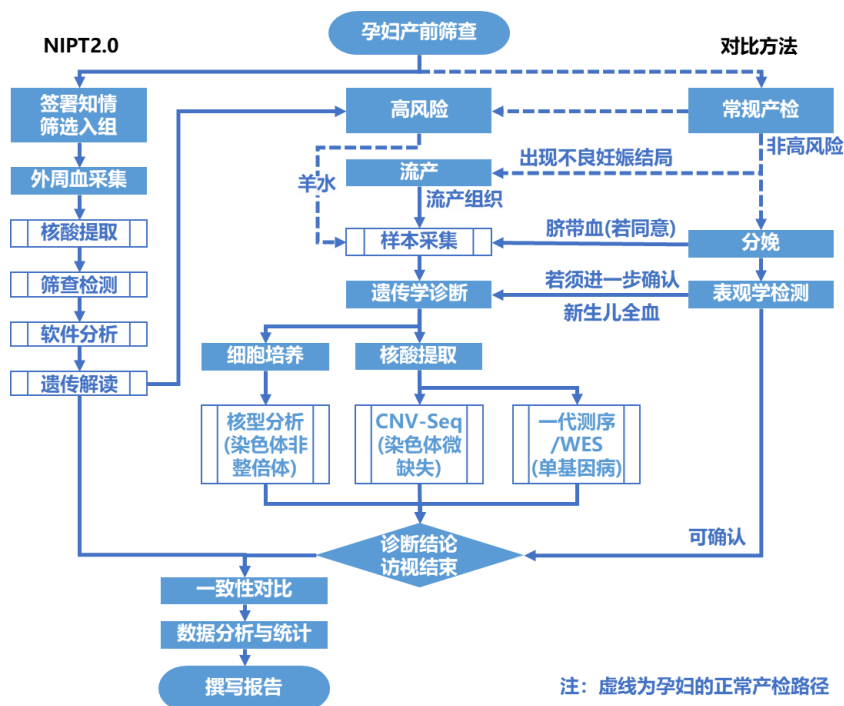


图1 NIPT2.0前瞻性临床研究技术路线图

孕妇签署知情同意后入组。采集孕妇外周血，提取血浆游离DNA样本，采用NIPT2.0技术对染色体非整倍体、微缺失以及显性单基因病进行筛查检测。若孕妇按照正常产检路径进行的常规产检结果为高风险和/或NIPT2.0技术筛查结果为高风险，则：（1）按现有常规临床方案进行介入性产前诊断手术，采集羊水等标本，细胞培养后开展染色体核型分析，没有进行核型分析的，也可采用其他分子诊断结果；（2）若孕妇出现不良妊娠结局，则采集流产组织；（3）若孕妇正常分娩，如表观学检测可确认的，则记录表观特征随访结果；如表

观学检测不可确认，则采集脐带血/新生儿全血等标本。对于羊水/羊水培养细胞、流产组织、脐带血/新生儿全血等标本，提取核酸后，进行基因组拷贝数变异测序（CNV-seq）或一代测序、全外显子测序（WES）等方法中的一种或多种方法学验证。

将NIPT2.0技术筛查结果与产前诊断或随访的对比方法结果进行比较，评估NIPT2.0技术对常见染色体非整倍体、微缺失和显性单基因病筛查检测的临床灵敏度/检出率、临床特异度、假阳性率、准确度、阳性预测值、阴性预测值及检测失败率等重要临床应用指标，评估NIPT2.0技术临床应用的局限性和临床应用价值等，验证本标准质量控制指标参数设置的合理性。

### 8.2.2 质量控制指标验证结果

对2023年2月至2025年9月入组的5512例样本，开展了NIPT2.0前瞻性临床研究。研究结果见图2及前瞻性临床研究阶段性总结报告（见附件5）。

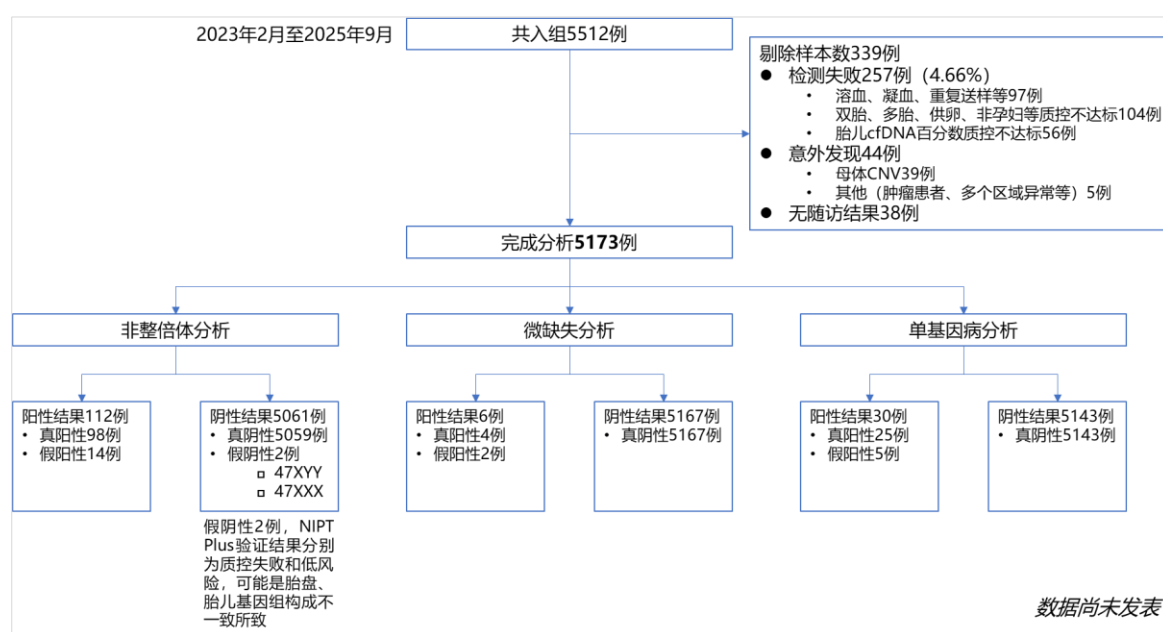


图2 NIPT2.0前瞻性临床研究结果

将前瞻性临床研究结果与本标准质量控制指标参数设置进行对比，前瞻性临床研究各项性能结果全部符合，见表2。

表2 前瞻性临床研究结果与本标准质量控制指标参数设置的对比

本团体标准章节	本团体标准质量控制指标	本团体标准参数设置	45号文 <sup>a</sup> 要求	广东Plus团标 <sup>b</sup> 要求	前瞻性临床研究性能结果	是否符合本标准要求
8.1.1 染色体	21 三体综合征检出率	≥95%	≥95%	≥95%	100.00%	符合

本团体标准章节	本团体标准质量控制指标	本团体标准参数设置	45号文 <sup>a</sup> 要求	广东Plus团标 <sup>b</sup> 要求	前瞻性临床研究性能结果	是否符合本标准要求
非整倍体	18 三体综合征检出率	≥85%	≥85%	≥85%	100.00%	符合
	13 三体综合征检出率	≥70%	≥70%	≥70%	100.00%	符合
	三项常规三体复合假阳性率	≤0.5%	≤0.5%	≤0.5%	0.14%	符合
	三项常规三体复合阳性预测值	≥50%	≥50%	≥50%	90.28%	符合
	全部目标非整倍体复合检出率	≥90%	——	——	98.00%	符合
	全部目标非整倍体复合假阳性率	≤0.5%	——	——	0.28%	符合
	全部目标非整倍体复合阳性预测值	≥50%	——	——	87.50%	符合
8.1.2 染色体微缺失综合征	目标染色体微缺失复合检出率	≥70%	——	≥70%	100.00%	符合
	目标染色体微缺失复合假阳性率	≤0.5%	——	≤0.5%	0.04%	符合
	目标染色体微缺失复合阳性预测值	≥40%	——	≥30%	66.67%	符合
8.1.3 单基因病	目标单基因病复合检出率	≥80%	——	——	100.00%	符合
	目标单基因病复合假阳性率	≤0.5%	——	——	0.10%	符合

本团体标准章节	本团体标准质量控制指标	本团体标准参数设置	45号文 <sup>a</sup> 要求	广东Plus团标 <sup>b</sup> 要求	前瞻性临床研究性能结果	是否符合本标准要求
	目标单基因病复合阳性预测值	≥50%	——	——	83.33%	符合
8.1.4 检测失败率	检测失败率	≤5%	≤5%	≤5%	4.66%	符合
注： a. 45号文：国卫办妇幼发〔2016〕45号 《孕妇外周血胎儿游离DNA产前筛查与诊断技术规范》 b. 广东Plus团标：T/GDPMMA 0004—2020 《基于孕妇外周血浆游离DNA高通量测序无创产前筛查胎儿基因组疾病技术标准》						

### 8.2.3 质量控制指标验证结论

NIPT2.0前瞻性临床研究的性能结果均符合本团体标准的质量控制指标要求，证明本团体标准的质量控制指标的参数设置具备合理性和可行性。

另外，前瞻性临床研究的临床应用流程，包括临床适用范围、检测前告知和检测前咨询、单基因变异解读、质量控制、筛查报告常规内容、意外发现、检测后遗传咨询及随访、标本、资料信息与数据的保存等，均符合本标准的技术要求。NIPT2.0前瞻性临床研究能够顺利开展并取得良好结果，可从一定程度上证明本标准对临床应用流程的技术要求具备科学性和可行性。

### 8.3 对临床应用流程的验证

#### 8.3.1 临床应用流程验证方案

拟针对本标准规定的临床应用流程的主要内容，设计、修改并确定德尔菲（Delphi）问卷，并组织全国约50家医疗机构的本领域专家通过德尔菲法进行投票。

针对问卷的每一项内容，至少获得70%赞同比例的为强推荐意见，确认该项内容验证通过；

至少获得了50%的赞同比例且持反对意见者的比例低于20%的内容，为推荐意见，根据专家意见酌情修订后，视为验证通过；

低于50%赞同比例的内容，酌情删除。

#### 8.3.2 临床应用流程验证计划

计划于2026年5月末前完成，有待按计划实施。

已初步设计26项内容的调查问卷。

## 9 采用国内外标准情况

国卫办妇幼发〔2016〕45号 孕妇外周血胎儿游离DNA产前筛查与诊断技术规范  
T/GDPMAA 0004—2020 基于孕妇外周血浆游离DNA高通量测序无创产前筛查胎儿  
基因组疾病技术标准。

## 10 与有关的现行法律、法规和强制性国家标准的关系

本标准符合现行法律、法规和强制性标准的规定。

## 11 重大分歧意见的处理经过和依据

无。

## 12 标准作为团体标准发布的意见

目前，我国还没有相关国家标准、行业标准、地方标准或团体标准等，建议将本标准作为团体推荐性标准，并逐步向行业内推广使用。

## 13 其他事项说明

无。

# 复旦大学附属妇产科医院 NIPT2.0 项目性能验证报告

试剂名称： 孕妇外周血胎儿游离 DNA 染色体非整倍体、  
微缺失和单基因病检测试剂盒（靶向捕获-高通量测序法）

规格型号： 64 测试/套

项目负责人： 陈松长

2024 年 08 月 07 日

## 目 录

一、 验证目的 .....	1
二、 验证内容 .....	1
1. 对象.....	1
2. 原理.....	1
3. 样本要求.....	2
三、 实验流程及质控结果.....	3
1. 实验流程.....	3
2. 文库构建结果.....	3
3. 杂交捕获结果.....	4
4. 环化结果.....	4
5. Make DNB 结果 .....	4
6. 下机数据分析.....	5
四、 性能验证总结 .....	9

## 一、验证目的

完成血浆游离 DNA 提取、文库构建、杂交捕获、环化以及测序上机等实验步骤，对 NIPT2.0 项目全流程实验以及测序仪进行性能验证。

## 二、验证内容

### 1. 对象

试剂名称：孕妇外周血胎儿游离 DNA 染色体非整倍体、微缺失和单基因病检测试剂盒（靶向捕获-高通量测序法）

试剂厂家：北京博昊云天科技有限公司

### 2. 原理

孕期母体外周血中胎儿游离 DNA 的发现，推动了无创产前筛查技术的发展及其临床应用(Lo et al., 1997)。胎儿游离 DNA 中包含有胎儿的完整的基因组信息，因此通过对其采用适当的检测方法，可以对胎儿罹患单基因显性遗传性疾病的风险进行非侵入式的筛查。在本检测中，首先将从孕妇血浆中提取的游离 DNA 进行末端修复，在 DNA 片段两端连接包含有分子标签和样本标签的接头，构建成为测序可识别的全基因组 DNA 文库。然后，将构建的 DNA 文库与标记有生物素的 DNA 单链探针进行杂交，捕获与探针互补的靶标游离 DNA 片段。杂交完成后，加入链霉亲和素标记磁珠，磁珠上的链霉亲和素与生物素标记的寡核苷酸探针-DNA 片段杂交复合物通过强非共价键作用结合。然后通过洗脱过程去除非靶区域序列及其它杂质，得到含靶区域特异性的捕获产物的文库。随后通过高温使捕获后的 DNA 文库变性成单链并环化形成单链环状 DNA，结合滚环扩增技术将单链环状 DNA 进行扩增形成扩增产物 DNA 纳米球。最后，对扩增产物 DNA 纳米球进行 DNA 末端终止边合成边测序反应，根据四种不同的荧光信号确认碱基种类读取 DNA 序列。本试剂盒采用靶向探针捕获目标染色体和单基因区域的 DNA 序列并结合高深度测序，检测可以造成严重出生缺陷的染色体非整倍体、染色体微缺失、显性单基因突变，实现了对胎儿基因组中 10 种染色体非整倍体疾病、13 种染色体微缺失综合征及 64 个基因 92 种显性单基因疾病的筛查。

### 3. 样本要求

准备 32 例血浆样本（详见表 1）和 2 条环化产物 PP861 和 PP862，分别验证全流程以及测序仪，其中血浆样本中阳性样本在试剂盒检测范围内（详见附表 1）；血浆样本的样本量分别为 1.8mL，状态无溶血，环化产物产量分别为 23.52ng 和 16.63ng，符合试剂盒要求。

表 1 血浆样本表

序号	样本编号	样本类型	样本量 (mL)	变异类型
1	2380195B1P0	血浆	1.8	阴性
2	2380184B1P0	血浆	1.8	阴性
3	2380179B1P0	血浆	1.8	阴性
4	2380161B1P0	血浆	1.8	阴性
5	2380154B1P0	血浆	1.8	阴性
6	2380150B1P0	血浆	1.8	阴性
7	2380130B1P0	血浆	1.8	阴性
8	2380115B1P0	血浆	1.8	阴性
9	2380216B1P0	血浆	1.8	阴性
10	2380186B1P0	血浆	1.8	阴性
11	2380178B1P0	血浆	1.8	阴性
12	2380163B1P0	血浆	1.8	阴性
13	2380159B1P0	血浆	1.8	阴性
14	2380956B1P0	血浆	1.8	COL11A1 (NM_001854.4) :c.4582G>A, p.Gly1528Ser (VUS)
15	2381277B1P0	血浆	1.8	T21 (Z 值:17.8)
16	2380006B1P0	血浆	1.8	阴性
17	2380113B1P0	血浆	1.8	阴性
18	2380105B1P0	血浆	1.8	阴性
19	2380256B1P0	血浆	1.8	阴性
20	2380102B1P0	血浆	1.8	阴性
21	2380097B1P0	血浆	1.8	阴性
22	2381091B1P0	血浆	1.8	CHD7: (NM_017780.4) :c.8571_8572 del, p.Ser2860Hisfs*8
23	2381172B1P0	血浆	1.8	T21 (Z 值:12.2)
24	2484266B1P0	血浆	1.8	5p15 del (Z 值:-10.8)
25	2380157B1P0	血浆	1.8	阴性
26	2380111B1P0	血浆	1.8	阴性

27	2380230B1P0	血浆	1.8	阴性
28	2380104B1P0	血浆	1.8	阴性
29	2380099B1P0	血浆	1.8	阴性
30	2380088B1P0	血浆	1.8	阴性
31	2380048B1P0	血浆	1.8	阴性
32	2380042B1P0	血浆	1.8	阴性

### 三、实验流程及质控结果

#### 1. 实验流程

按照《孕妇外周血胎儿游离 DNA 染色体非整倍体、微缺失和单基因病检测试剂盒（靶向捕获-高通量测序法）说明书》对准备好的 32 例血浆样本进行游离 DNA 提取、文库构建、杂交捕获以及环化，与另外 2 条环化产物进行一张芯片的上机测序，每个实验步骤质检合格后可进行下一步。

#### 2. 文库构建结果

文库构建结果如下表所示，32 例血浆样本文库产量 $\geq 500\text{ng}$ ，符合质控要求文库产量 $\geq 500\text{ng}$ ，质控通过，文库构建成功。

表 2 文库构建结果表

序号	样本编号	浓度 (ng/ $\mu\text{L}$ )	洗脱体积 ( $\mu\text{L}$ )	文库产量 (ng)	是否合格
1	2380195B1P0	40.8	32	1305.6	是
2	2380184B1P0	77.8	32	2489.6	是
3	2380179B1P0	81.6	32	2611.2	是
4	2380161B1P0	36.4	32	1164.8	是
5	2380956B1P0	55.6	32	1779.2	是
6	2380154B1P0	91	32	2912	是
7	2380150B1P0	78	32	2496	是
8	2380130B1P0	87.8	32	2809.6	是
9	2380115B1P0	82.2	32	2630.4	是
10	2380216B1P0	70.2	32	2246.4	是
11	2380186B1P0	74.2	32	2374.4	是
12	2380178B1P0	81.8	32	2617.6	是
13	2380163B1P0	65.8	32	2105.6	是
14	2380159B1P0	41.6	32	1331.2	是
15	2381277B1P0	49.4	32	1580.8	是
16	2380006B1P0	61.6	32	1971.2	是
17	2380113B1P0	77.8	32	2489.6	是
18	2380105B1P0	69	32	2208	是

19	2381091B1P0	34	32	1088	是
20	2380256B1P0	30.8	32	985.6	是
21	2380102B1P0	62.4	32	1996.8	是
22	2380097B1P0	94.2	32	3014.4	是
23	2381172B1P0	56.8	32	1817.6	是
24	2380157B1P0	77.8	32	2489.6	是
25	2380111B1P0	93.6	32	2995.2	是
26	2380230B1P0	44	32	1408	是
27	2380104B1P0	74.2	32	2374.4	是
28	2484266B1P0	51.2	32	1638.4	是
29	2380099B1P0	65	32	2080	是
30	2380088B1P0	53.4	32	1708.8	是
31	2380048B1P0	74.2	32	2374.4	是
32	2380042B1P0	58	32	1856	是

### 3. 杂交捕获结果

杂交捕获每个文库的浓度分别为 FD001 浓度为 41.7ng/μL、FD002 浓度为 40.1ng/μL，质控范围 15ng/μL ≤ 文库浓度 ≤ 44ng/μL 为合格 (16 例样本/lane)，符合质控要求，质控通过，杂交捕获成功。

### 4. 环化结果

环化产物产量分别为 FD001 产量为 14.07ng、FD002 产量为 12.26ng，环化产物 >6ng 以上为合格，符合质控要求，质控通过，环化成功。

### 5. Make DNB 结果

Make DNB 产量详见表 3，DNB 浓度 ≥ 8ng/μL 以上为合格，符合质控要求，质控通过，Make DNB 成功。

表 3 Make DNB 结果表

芯片分布	pool 名称	Make DNB 浓度 (ng/μL)	是否合格
Lane 01	FD001	18.9	是
Lane 02	FD002	19.9	是
Lane 03	PP861	18.5	是
Lane 04	PP862	17.8	是

## 6. 下机数据分析

下机数据质控结果如下表, 每条 lane 均符合质控要求(Q30 $\geq$ 85%, Total reads  $\geq$ 400M)。

表 4 下机数据结果表

芯片分布	pool 名称	总数据量 Total reads(M)	Q30 (%)	是否合格
Lane 01	FD001	523.59	96.25	是
Lane 02	FD002	520.7	96.48	是
Lane 03	PP861	530.83	96.85	是
Lane 04	PP862	529.98	96.93	是

数据分析结果详见下表 5:

表 5 数据分析结果表

序号	样本编号	测序深度 DepRegion	胎儿 DNA 百分比 FetalFraction
1	2380006B1P0	1959	19.50%
2	2380115B1P0	2958	8.20%
3	2380130B1P0	2418	6.90%
4	2380150B1P0	2262	8.40%
5	2380154B1P0	2028	6.90%
6	2380159B1P0	1271	12.20%
7	2380161B1P0	1216	13.30%
8	2380163B1P0	2105	11.70%
9	2380178B1P0	2590	11.40%
10	2380179B1P0	2468	12.60%
11	2380184B1P0	2429	6.70%
12	2380186B1P0	2093	6.70%
13	2380195B1P0	1246	11.60%
14	2380216B1P0	2741	11.40%
15	2380956B1P0	2108	9.60%
16	2381277B1P0	1814	10.20%
17	2380042B1P0	2245	8.20%
18	2380048B1P0	2327	8.60%
19	2380088B1P0	1857	9.50%
20	2380097B1P0	2608	8.70%
21	2380099B1P0	2066	9.70%
22	2380102B1P0	2140	11.00%

23	2380104B1P0	2285	12.80%
24	2380105B1P0	1945	14.40%
25	2380111B1P0	2465	15.80%
26	2380113B1P0	2656	9.90%
27	2380157B1P0	2219	12.90%
28	2380230B1P0	1427	13.20%
29	2380256B1P0	1141	15.30%
30	2381091B1P0	1315	25.80%
31	2381172B1P0	1618	10.30%
32	2484266B1P0	1518	16.50%
33	2485063B1P0	2153	7.20%
34	2485064B1P0	1822	6.60%
35	2485065B1P0	1350	17.50%
36	2485066B1P0	2049	8.00%
37	2485068B1P0	1910	11.90%
38	2485069B1P0	1582	11.10%
39	2485070B1P0	1611	9.30%
40	2485071B1P0	1550	5.10%
41	2485072B1P0	2254	12.00%
42	2485073B1P0	2129	11.70%
43	2485074B1P0	2661	11.30%
44	2485075B1P0	1737	18.00%
45	2485101B1P0	1811	9.60%
46	2485102B1P0	2261	5.30%
47	2485106B1P0	2634	3.20%
48	2485121B1P0	1586	8.10%
49	2485067B1P0	1604	15.00%
50	2485076B1P0	1833	11.90%
51	2485103B1P0	2141	6.20%
52	2485104B1P0	1830	6.10%
53	2485105B1P0	2708	7.00%
54	2485107B1P0	2208	11.50%
55	2485108B1P0	2094	4.30%
56	2485122B1P0	2084	7.90%
57	2485123B1P0	1708	10.70%
58	2485124B1P0	1767	9.30%
59	2485125B1P0	2392	13.20%
60	2485126B1P0	1646	10.20%
61	2485127B1P0	1664	13.80%
62	2485152B1P0	1423	10.80%

63	2485153B1P0	1878	10.20%
64	2485154B1P0	1771	8.70%

64 例回顾性样本结果均与历史结果比对如下表 6:

表 6 准确性评估表

序号	样本编号	原始结果	复旦实验结果	是否一致
1	2380195B1P0	阴性	阴性	是
2	2380184B1P0	阴性	阴性	是
3	2380179B1P0	阴性	阴性	是
4	2380161B1P0	阴性	阴性	是
5	2380154B1P0	阴性	阴性	是
6	2380150B1P0	阴性	阴性	是
7	2380130B1P0	阴性	阴性	是
8	2380115B1P0	阴性	阴性	是
9	2380216B1P0	阴性	阴性	是
10	2380186B1P0	阴性	阴性	是
11	2380178B1P0	阴性	阴性	是
12	2380163B1P0	阴性	阴性	是
13	2380159B1P0	阴性	阴性	是
14	2380956B1P0	COL11A1 (NM_001854.4) :c.45 82G>A, p.Gly1528Ser (VUS)	COL11A1 (NM_001854.4) :c.4582 G>A, p.Gly1528Ser (VUS)	是(父亲携 带该变异, 且上一胎 有该基因 对应疾病 的相关症 状,所以报 出提示)
15	2381277B1P0	T21 (Z 值:17.8)	T21 (Z 值:11.8)	是
16	2380006B1P0	阴性	阴性	是
17	2380113B1P0	阴性	阴性	是
18	2380105B1P0	阴性	阴性	是
19	2380256B1P0	阴性	阴性	是
20	2380102B1P0	阴性	阴性	是
21	2380097B1P0	阴性	阴性	是
22	2381091B1P0	CHD7: (NM_017780.4) :c.85 71_8572del, p.Ser2860Hisfs*8	CHD7: (NM_017780.4) :c.8571 _8572del, p.Ser2860Hisfs*8	是
23	2381172B1P0	T21 (Z 值:12.2)	T21 (Z 值:12.3)	是
24	2484266B1P0	5p15 del (Z 值:-10.8)	5p15 del (Z 值:-12.2)	是
25	2380157B1P0	阴性	阴性	是
26	2380111B1P0	阴性	阴性	是

27	2380230B1P0	阴性	阴性	是
28	2380104B1P0	阴性	阴性	是
29	2380099B1P0	阴性	阴性	是
30	2380088B1P0	阴性	阴性	是
31	2380048B1P0	阴性	阴性	是
32	2380042B1P0	阴性	阴性	是
33	2485074B1P0	阴性	阴性	是
34	2485072B1P0	阴性	阴性	是
35	2485073B1P0	阴性	阴性	是
36	2485066B1P0	阴性	阴性	是
37	2485101B1P0	阴性	阴性	是
38	2485068B1P0	阴性	阴性	是
39	2485063B1P0	阴性	阴性	是
40	2485102B1P0	阴性	阴性	是
41	2485075B1P0	阴性	阴性	是
42	2485064B1P0	阴性	阴性	是
43	2485069B1P0	阴性	阴性	是
44	2485065B1P0	阴性	阴性	是
45	2485106B1P0	阴性	阴性	是
46	2485070B1P0	阴性	阴性	是
47	2485071B1P0	阴性	阴性	是
48	2485121B1P0	阴性	阴性	是
49	2485122B1P0	阴性	阴性	是
50	2485105B1P0	PTPN11 (NM_002834.5) : c. 5C>T, p. Thr211e	PTPN11 (NM_002834.5) :c. 5C>T, p. Thr211e	是
51	2485123B1P0	阴性	阴性	是
52	2485127B1P0	阴性	阴性	是
53	2485076B1P0	阴性	阴性	是
54	2485124B1P0	阴性	阴性	是
55	2485067B1P0	阴性	阴性	是
56	2485104B1P0	阴性	阴性	是
57	2485152B1P0	阴性	阴性	是
58	2485126B1P0	阴性	阴性	是
59	2485125B1P0	阴性	阴性	是
60	2485103B1P0	阴性	阴性	是
61	2485153B1P0	阴性	阴性	是
62	2485154B1P0	阴性	阴性	是
63	2485107B1P0	阴性	阴性	是
64	2485108B1P0	阴性	阴性	是

结论：64 例回顾性样本结果均与原始结果 100%一致。

#### 四、性能验证总结

通过以上数据得出，NIPT2.0 项目从血浆游离 DNA 提取、文库构建、杂交捕获、环化、测序上机以及下机数据分析的质控均符合要求。64 例回顾性样本结果均与原始结果 100%一致，全流程实验以及测序仪的验证实验合格，性能验证实验通过。

项目负责人签字：



# 广东省妇幼保健院 NIPT2.0 项目性能验证报告

试剂名称：孕妇外周血胎儿游离 DNA 染色体非整倍体、  
微缺失和单基因病检测试剂盒（靶向捕获-高通量测序法）

规格型号：64 测试/套

项目负责人：杨洁霞

2025 年 03 月 21 日

## 目 录

一、 验证目的 .....	1
二、 验证内容 .....	1
1. 对象 .....	1
2. 原理 .....	1
3. 样本要求 .....	1
三、 实验流程及质控结果 .....	3
1. 实验流程 .....	3
2. 文库构建结果 .....	3
3. 杂交捕获结果 .....	4
4. 环化结果 .....	4
5. Make DNB 结果 .....	5
6. 下机数据分析 .....	5
四、 性能验证总结 .....	7

## 一、验证目的

完成血浆游离 DNA 提取、文库构建、杂交捕获、环化以及测序上机等实验步骤，对 NIPT2.0 项目全流程实验以及测序仪进行性能验证。

## 二、验证内容

### 1. 对象

试剂名称：孕妇外周血胎儿游离 DNA 染色体非整倍体、微缺失和单基因病检测试剂盒（靶向捕获-高通量测序法）

试剂厂家：北京博昊云天科技有限公司

### 2. 原理

孕期母体外周血中胎儿游离 DNA 的发现，推动了无创产前筛查技术的发展及其临床应用(Lo et al., 1997)。胎儿游离 DNA 中包含有胎儿的完整的基因组信息，因此通过对其采用适当的检测方法，可以对胎儿罹患单基因显性遗传性疾病的风险进行非侵入式的筛查。在本检测中，首先将从孕妇血浆中提取的游离 DNA 进行末端修复，在 DNA 片段两端连接包含有分子标签和样本标签的接头，构建成为测序可识别的全基因组 DNA 文库。然后，将构建的 DNA 文库与标记有生物素的 DNA 单链探针进行杂交，捕获与探针互补的靶标游离 DNA 片段。杂交完成后，加入链霉亲和素标记磁珠，磁珠上的链霉亲和素与生物素标记的寡核苷酸探针-DNA 片段杂交复合物通过强非共价键作用结合。然后通过洗脱过程去除非靶区域序列及其它杂质，得到含靶区域特异性的捕获产物的文库。随后通过高温使捕获后的 DNA 文库变性成单链并环化形成单链环状 DNA，结合滚环扩增技术将单链环状 DNA 进行扩增形成扩增产物 DNA 纳米球。最后，对扩增产物 DNA 纳米球进行 DNA 末端终止边合成边测序反应，根据四种不同的荧光信号确认碱基种类读取 DNA 序列。本试剂盒采用靶向探针捕获目标染色体和单基因区域的 DNA 序列并结合高深度测序，检测可以造成严重出生缺陷的染色体非整倍体、染色体微缺失、显性单基因突变，实现了对胎儿基因组中 10 种染色体非整倍体疾病、13 种染色体微缺失综合征及 64 个基因 92 种显性单基因疾病的筛查。

### 3. 样本要求

准备 32 例血浆样本（详见表 1）和 2 条杂交产物 PP977 和 PP1030，分别验证

全流程以及测序仪，其中血浆样本中阳性样本在试剂盒检测范围内（详见附表1）；血浆样本的样本量分别为 1.8mL，状态无溶血，杂交产物浓度分别为 33.4ng/ $\mu$ L 和 35ng/ $\mu$ L，符合试剂盒要求。

表 1 血浆样本表

序号	样本编号	样本类型	样本量 (mL)	原始结果
1	SG3494	血浆	1.8	阴性
2	SG3508	血浆	1.8	阴性
3	SG3509	血浆	1.8	阴性
4	SG3511	血浆	1.8	阴性
5	SG3512	血浆	1.8	阴性
6	SG3526	血浆	1.8	阴性
7	SG3559	血浆	1.8	阴性
8	SG3566	血浆	1.8	阴性
9	SG3577	血浆	1.8	arr[GRCh37] Xq23q28(111151173_155233098)x1
10	SG3626	血浆	1.8	阴性
11	SG3633	血浆	1.8	arr(18)×3
12	SG3656	血浆	1.8	阴性
13	SG3676	血浆	1.8	阴性
14	SG3697	血浆	1.8	阴性
15	SG3723	血浆	1.8	阴性
16	SG3724	血浆	1.8	阴性
17	SG3554	血浆	1.8	阴性
18	SG3560	血浆	1.8	阴性
19	SG3561	血浆	1.8	阴性
20	SG3565	血浆	1.8	阴性
21	SG3567	血浆	1.8	arr[GRCh37] 22q11.21(18648856_21800471)x1
22	SG3593	血浆	1.8	arr(18)×2-3,(21)×3
23	SG3618	血浆	1.8	arr(21)×3
24	SG3742	血浆	1.8	阴性
25	SG3774	血浆	1.8	arr[GRCh37] 18p11.32p11.22(136228_9252162)x1 18q11.2q23(24382854_78013728)x3

26	SG3776	血浆	1.8	阴性
27	SG3778	血浆	1.8	FGFR3 基因 (NM_000142) c.1138G>A(p.Gly380Arg) (新发 LP) 杂合变异
28	SG3790	血浆	1.8	阴性
29	SG3793	血浆	1.8	阴性
30	SG3796	血浆	1.8	阴性
31	SG3797	血浆	1.8	阴性
32	SG3848	血浆	1.8	FGFR3 基因 (NM_000142) c.742C>T(p.Arg248Cys) (新发 P) 杂合 变异

### 三、实验流程及质控结果

#### 1. 实验流程

按照《孕妇外周血胎儿游离 DNA 染色体非整倍体、微缺失和单基因病检测试剂盒（靶向捕获-高通量测序法）说明书》对准备好的 32 例血浆样本进行游离 DNA 提取、文库构建、杂交捕获，与另外 2 条杂交产物进行环化及上机测序，每个实验步骤质检合格后可进行下一步。

#### 2. 文库构建结果

文库构建结果如下表所示，32 例血浆样本文库产量 $\geq 500\text{ng}$ ，符合质控要求文库产量 $\geq 500\text{ng}$ ，质控通过，文库构建成功。

表 2 文库构建结果表

序号	样本编号	浓度 (ng/ $\mu\text{L}$ )	洗脱体积 ( $\mu\text{L}$ )	文库产量 (ng)	是否合格
1	SG3633	61.4	32	1964.8	是
2	SG3577	33.4	32	1068.8	是
3	SG3724	78.2	32	2502.4	是
4	SG3509	42.8	32	1369.6	是
5	SG3559	58.8	32	1881.6	是
6	SG3566	35.4	32	1132.8	是
7	SG3626	84.6	32	2707.2	是
8	SG3656	61.6	32	1971.2	是
9	SG3676	67.2	32	2150.4	是
10	SG3697	48.4	32	1548.8	是

11	SG3723	53.4	32	1708.8	是
12	SG3494	33.4	32	1068.8	是
13	SG3508	91.8	32	2937.6	是
14	SG3511	36.8	32	1177.6	是
15	SG3512	78.8	32	2521.6	是
16	SG3526	38	32	1216	是
17	SG3848	44.6	32	1427.2	是
18	SG3593	37.6	32	1203.2	是
19	SG3567	61	32	1952	是
20	SG3554	57.4	32	1836.8	是
21	SG3560	48.4	32	1548.8	是
22	SG3561	38	32	1216	是
23	SG3565	32.4	32	1036.8	是
24	SG3778	86.2	32	2758.4	是
25	SG3774	53	32	1696	是
26	SG3742	81.6	32	2611.2	是
27	SG3776	49.6	32	1587.2	是
28	SG3790	33.4	32	1068.8	是
29	SG3793	28.2	32	902.4	是
30	SG3796	37.2	32	1190.4	是
31	SG3797	24	32	768	是
32	SG3618	27.8	32	889.6	是

### 3. 杂交捕获结果

杂交捕获每个文库的浓度分别为 GD001 浓度为 45.2ng/μL、GD002 浓度为 51ng/μL，质控范围 15ng/μL≤文库浓度≤44ng/μL 为合格（16 例样本/lane），文库浓度 >44ng/μL，排除实验异常原因后可上机，经排查本次实验过程无异常，杂交捕获成功。

### 4. 环化结果

环化产物产量详见表 3，环化产量 >6ng 以上为合格，符合质控要求，质控通过，环化成功。

表 3 Make DNB 结果表

pool 名称	环化浓度(ng/μL)	洗脱体积 (μL)	环化产量 (ng)	是否合格
---------	-------------	-----------	-----------	------

GD001	1.82	21	38.22	是
GD002	1.8	21	37.8	是
GD003	0.927	21	19.467	是
GD004	2.02	21	42.42	是

### 5. Make DNB 结果

Make DNB 产量详见表 4，DNB 浓度 $\geq 8\text{ng}/\mu\text{L}$  以上为合格，符合质控要求，质控通过，Make DNB 成功。

表 4 Make DNB 结果表

芯片分布	pool 名称	Make DNB 浓度( $\text{ng}/\mu\text{L}$ )	是否合格
Lane 01	GD001	14.8	是
Lane 02	GD002	14.2	是
Lane 03	GD003	12.4	是
Lane 04	GD004	14.1	是

### 6. 下机数据分析

64 例回顾性样本结果均与历史结果比对如下表 5:

表 5 准确性评估表

序号	样本编号	原始结果	检测结果	是否一致
1	SG3494	阴性	阴性	是
2	SG3508	阴性	阴性	是
3	SG3509	阴性	阴性	是
4	SG3511	阴性	阴性	是
5	SG3512	阴性	阴性	是
6	SG3526	阴性	阴性	是
7	SG3559	阴性	阴性	是
8	SG3566	阴性	阴性	是
9	SG3577	arr[GRCh37] Xq23q28(111151173_15 5233098)x1	45X	是
10	SG3626	阴性	阴性	是
11	SG3633	arr(18)×3	T18	是
12	SG3656	阴性	阴性	是
13	SG3676	阴性	阴性	是
14	SG3697	阴性	阴性	是
15	SG3723	阴性	阴性	是
16	SG3724	阴性	QC fail	/

17	SG3554	阴性	阴性	是
18	SG3560	阴性	阴性	是
19	SG3561	阴性	阴性	是
20	SG3565	阴性	阴性	是
21	SG3567	arr[GRCh37] 22q11.21(18648856_21800471)x1	22q11.2 del	是
22	SG3593	arr(18)×2-3,(21)×3	T21	是
23	SG3618	arr(21)×3	T21	是
24	SG3742	阴性	阴性	是
25	SG3774	arr[GRCh37] 18p11.32p11.22(136228_9252162)x1  18q11.2q23(24382854_78013728)x3	T18	是
26	SG3776	阴性	阴性	是
27	SG3778	FGFR3 基因 (NM_000142) c.1138G>A(p.Gly380Arg) (新发 LP) 杂合变异	FGFR3:c.1138G>A, p.Gly380Arg	是
28	SG3790	阴性	阴性	是
29	SG3793	阴性	阴性	是
30	SG3796	阴性	阴性	是
31	SG3797	阴性	阴性	是
32	SG3848	FGFR3 基因 (NM_000142) c.742C>T(p.Arg248Cys) (新发 P) 杂合变异	FGFR3:c.742C>T, p.Arg248Cys	是
33	2380168B1PO	阴性	阴性	是
34	2380169B1PO	阴性	阴性	是
35	2380170B1PO	阴性	阴性	是
36	2380171B1PO	阴性	阴性	是
37	2380172B1PO	阴性	阴性	是
38	2380173B1PO	阴性	阴性	是
39	2380174B1PO	阴性	阴性	是
40	2380180B1PO	阴性	阴性	是
41	2380182B1PO	阴性	阴性	是
42	2380183B1PO	阴性	阴性	是
43	2380185B1PO	阴性	阴性	是
44	2380187B1PO	阴性	阴性	是
45	2380719B1PO	阴性	阴性	是
46	2380720B1PO	阴性	阴性	是

47	2486499P1PO	阴性	阴性	是
48	2486504P1PO	T18	T18	是
49	2180028P1PO	阴性	阴性	是
50	2180081P2PO	阴性	阴性	是
51	2180096P2PO	阴性	阴性	是
52	2180161P2PO	阴性	阴性	是
53	2180180P2PO	阴性	阴性	是
54	2180214P2PO	阴性	阴性	是
55	2180693P1PO	阴性	阴性	是
56	2180696P1PO	阴性	阴性	是
57	2180731P1PO	阴性	阴性	是
58	2180737P1PO	阴性	阴性	是
59	2280009P1PO	阴性	阴性	是
60	2280028P1PO	阴性	阴性	是
61	2280175P1PO	阴性	阴性	是
62	2486419P1PO	18p del	18p del	是
63	2486422P1PO	45X	45X	是
64	2486427P1PO	T21	T21	是

结论：64 例回顾性样本结果除 1 例因胎儿浓度低（2.3%）质控失败外均与原始结果 100%一致。

#### 四、性能验证总结

通过以上数据得出，NIPT2.0 项目从血浆游离 DNA 提取、文库构建、杂交捕获、环化、测序上机以及下机数据分析的质控均符合要求。64 例回顾性样本结果除 1 例因胎儿浓度低（2.3%）质控失败外均与原始结果 100%一致，全流程实验以及测序仪的验证实验合格，性能验证实验通过。

项目负责人签字： 

# 四川大学华西第二医院 NIPT2.0 项目性能验证报告

试剂名称： 孕妇外周血胎儿游离 DNA 染色体非整倍体、  
微缺失和单基因病检测试剂盒（靶向捕获-高通量测序法）

规格型号：64 测试/套

项目负责人：祝茜

2024 年 07 月 16 日

## 一、研究目的

通过回顾性临床标本的单盲测试,评估 NIPT2.0 新型三合一无创产前筛查技术的检测性能。

## 二、研究方案

### 2.1 样本来源

该检测技术要求每张测序芯片的染色体异常样本不超过 8 个且异常不集中于同一条染色体,异常样本需均分子 4 条 lane,单基因异常样本数量无要求。基于以上要求及《NIPT2.0 新型三合一无创产前筛查技术应用研究》技术开发(合作)合同内容,四川大学华西第二医院提供已知产前诊断结果的回顾性临床标本 64 例:包括检测范围内的阳性标本共 11 例,分别为 T21、T18、T13 嵌合(嵌合比例约 34%)、22q11.2del、5p15del、45X/46XX 嵌合(嵌合比例约 43%)、47XXX、47XXY、COL2A1(NM\_001844.5):c.1381\_1387del(p.A461Sfs\*166)、TSC2(NM\_000548.5):c.5161-1G>C、PTPN11(NM\_002834.5):c.1472C>T(p.Pro491Leu)各 1 例;检测范围外的阳性样本共 5 例,包括 arr[GRCh38] 15q26.1q26.2(92551013\_94008167)x1、arr[GRCh38] 11q14.3(91179338\_92608341)x4、CD96(NM\_005816.5):c.54dup(p.V19fs)(评级 VUS)、arr[GRCh38] 15q24.1q26.3(74685886\_10188837)x3、TSC2:NM\_000548.5:c.3768\_3769delGGins C, p.A1a1257Glnfs\*68(双胎)各 1 例,测试该技术在检测范围外的检测能力;其余为阴性标本。

### 2.2 研究方法

将上述 64 例标本编盲后,分别使用 1.8mL 量按照《孕妇外周血胎儿游离 DNA 染色体非整倍体、微缺失和单基因病检测试剂盒(靶向捕获-高通量测序法)》说明书进行操作,研究过程中使用到的主要试剂耗材及设备分别见下表 1、表 2、表 3。

表 1 主要试剂表

序号	试剂名称	货号	试剂批号
1	磁珠法大体积游离核酸提取试剂盒	YDP710-T5A	Y2221
2	孕妇外周血胎儿游离 DNA 染色体非整倍体、微缺失和单基因病检测试剂盒(靶向捕获-高通量测序法)	/	20240102
3	2000 高通量测序试剂套装(FCL PE100)	1000012554	WLC24007
4	环化反应通用试剂盒	1000005259	A0550/A0205
5	Qubit™ 1× dsDNA HS Assay Kit	Q33231	2765737

6	Qubit™ ssDNA Assay Kit	Q10212	2714516
---	------------------------	--------	---------

表 2 主要耗材表

序号	耗材名称	厂家
1	一次性试剂槽	Corning
2	密封垫槽	吉因加
3	TF113-20-Q	QSP
4	TF113-100-Q	QSP
5	TF112-1000-Q	QSP
6	TF104-10-Q	QSP
7	PCR-2CP-RT-C	Axygen
8	PCR-05-C	Axygen
9	PCR-0208-C	Axygen
10	HRC UNV 200μL	Rainin
11	HRC LTS 200μL	Rainin
12	5mL 低吸附离心管	Eppendorf
13	50mL 离心管	Corning
14	3mL 胶头滴管	京东
15	2mL 离心管	Axygen
16	200μL 阔口吸头	Axygen
17	1.5mL 低吸附离心管	Eppendorf
18	PCR-02-C	Axygen

表 3 主要设备表

设备编号	设备名称	品牌	型号
BHYT-RD-01-080	基因扩增仪	BIOER	TC-96/G/H(b) C
BHYT-RD-01-066	基因扩增仪	eppendorf	Mastercycler nexus GSX1
BHYT-RD-01-074	单道手动移液器	RAININ	SL-2PL+
BHYT-RD-01-073	单道手动移液器	RAININ	SL-20PL+
BHYT-RD-01-072	单道手动移液器	RAININ	SL-200PL+

BHYT-RD-01-078	单道手动移液器	RAININ	SL-10PL+
BHYT-RD-01-312	单道手动移液器	RAININ	SL-100PL+
BHYT-RD-01-197	单道手动移液器	RAININ	SL-1000PL+
BHYT-RD-01-280	手动 8 道移液器	LABNET	P4808-200
BHYT-RD-01-261	手动 8 道移液器	eppendorf	BPPROE-100
BHYT-RD-01-132	手动 8 道移液器	eppendorf	BPPROE-10
BHYT-RD-01-291	可调间距手动 8 道移液器	RAININ	LA8-50XLS
BHZZ-EQ-318	漩涡混合器	其林贝尔	VORTEX-5
BHYT-RD-01-233	迷你涡旋混匀仪	TIANGEN	OSE-VX-03
BHZZ-EQ-388	便携式加样器	华大智造	MGIDC-200H
BHZZ-EQ-328	迷你离心机	JOANLAB	MC-7S
BHZZ-EQ-390	微型离心机	天根生化	OSE-MC8
BHZZ-EQ-168	低速离心机	中佳	SC-05
BHYT-RD-01-027	恒温金属混匀仪	上海沪析	HX-20T
BHYT-RD-01-441	PCR 板磁力架	TIANGEN	OSE-MF-03
BHYT-RD-01-396	磁力板	invitrogen	DynaMag-96 Side
BHYT-RD-01-428	磁力架	invitrogen	DynaMag-5
BHYT-RD-01-138	磁力架	invitrogen	DynaMag-2
BHYT-RD-01-242	Qubit 4 Fluorometer	invitrogen	Qubit 4
BHZZ-EQ-356	基因测序仪	吉因加	Gene+seq-2000

### 2.3 研究人员及时间

研究人员	单位	职责	时间
祝茜	四川大学华西第二医院	整体协调	20240617-20240624
邓测川	四川大学华西第二医院		
潘月	北京博昊云天科技有限公司	实验操作	
牛雪波	北京博昊云天科技有限公司		
赵欣	北京博昊云天科技有限公司	生信分析	20240628-20240709
杨洋	北京博昊云天科技有限公司	变异分析	

## 三、研究数据

### 3.1 下机数据质控

芯片编号	Lane	Total reads(M)	Q30 (%)	下机质量是否合格
V350265540	01	495.40	90.10	是
V350265540	02	502.23	90.69	是
V350265540	03	500.51	90.50	是
V350265540	04	496.31	90.31	是

### 3.2 数据分析质控概述

样本号	染色体 QC	单基因 QC	QC_Depth	QC_FF	QC_SampleType	QC_CNProbe
2480065HX	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass
2480066HX	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass
2480067HX	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass
2480068HX	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass
2480069HX	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass
2480070HX	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass
2480071HX	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass
2480072HX	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass
2480073HX	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass
2480074HX	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass
2480075HX	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass
2480076HX	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass
2480077HX	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass
2480078HX	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass
2480079HX	Fail	Pass	Pass	Pass	Pass	Fail
2480080HX	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass
2480081HX	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass
2480082HX	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass
2480083HX	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass
2480084HX	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass
2480085HX	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass
2480086HX	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass
2480087HX	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass
2480088HX	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass
2480089HX	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass
2480090HX	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass
2480091HX	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass

2480092HX	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass
2480093HX	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass
2480094HX	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass
2480095HX	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass
2480096HX	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass
2480097HX	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass
2480098HX	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass
2480099HX	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass
2480100HX	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass
2480101HX	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass
2480102HX	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass
2480103HX	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass
2480104HX	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass
2480105HX	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass
2480106HX	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass
2480107HX	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass
2480108HX	Fail	Pass	Pass	Pass	Fail	Pass
2480109HX	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass
2480110HX	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass
2480111HX	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass
2480112HX	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass
2480113HX	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass
2480114HX	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass
2480115HX	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass
2480116HX	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass
2480117HX	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass
2480118HX	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass
2480119HX	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass
2480120HX	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass
2480121HX	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass
2480122HX	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass
2480123HX	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass
2480124HX	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass
2480125HX	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass

2480126HX	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass
2480127HX	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass
2480128HX	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass

### 3.3 数据分析质控

样本号	Q30	DepRegion	FetalFraction	SampleType	CorReads	MCNV
2480065HX	0.905	1458	0.055	1	0.858	
2480066HX	0.906	1450	0.079	1	0.854	
2480067HX	0.907	2874	0.089	1	0.896	
2480068HX	0.911	1564	0.082	1	0.89	
2480069HX	0.914	1727	0.078	1	0.886	
2480070HX	0.909	1692	0.108	1	0.889	
2480071HX	0.905	1377	0.151	1	0.844	
2480072HX	0.908	2368	0.14	1	0.903	
2480073HX	0.894	2097	0.07	1	0.887	
2480074HX	0.906	2163	0.068	1	0.902	
2480075HX	0.909	1934	0.112	1	0.807	
2480076HX	0.907	1833	0.139	1	0.888	
2480077HX	0.911	1345	0.122	1	0.841	
2480078HX	0.914	2668	0.112	1	0.897	
2480079HX	0.9	1368	0.083	1	0.78	chr22:20721249-2 1075417 19% loss
2480080HX	0.903	1483	0.107	1	0.873	
2480081HX	0.91	1876	0.078	1	0.891	
2480082HX	0.914	1694	0.075	1	0.893	
2480083HX	0.915	1401	0.144	1	0.769	
2480084HX	0.915	2092	0.104	1	0.899	
2480085HX	0.911	2142	0.07	1	0.895	
2480086HX	0.91	1517	0.076	1	0.866	
2480087HX	0.907	1572	0.073	1	0.871	
2480088HX	0.908	1169	0.165	1	0.75	
2480089HX	0.912	1875	0.116	1	0.883	
2480090HX	0.916	1608	0.094	1	0.878	
2480091HX	0.913	1721	0.067	1	0.876	
2480092HX	0.918	1328	0.118	1	0.886	
2480093HX	0.914	1319	0.104	1	0.849	
2480094HX	0.908	1281	0.159	1	0.84	
2480095HX	0.91	2329	0.085	1	0.856	
2480096HX	0.915	2304	0.102	1	0.901	

2480097HX	0.908	1349	0.081	1	0.865	
2480098HX	0.898	1405	0.075	1	0.846	
2480099HX	0.918	2440	0.068	1	0.9	
2480100HX	0.913	1456	0.135	1	0.87	
2480101HX	0.907	1761	0.09	1	0.875	
2480102HX	0.906	2645	0.035	1	0.893	
2480103HX	0.907	1542	0.087	1	0.871	
2480104HX	0.914	2154	0.086	1	0.902	
2480105HX	0.91	1739	0.116	1	0.871	
2480106HX	0.908	1371	0.089	1	0.848	
2480107HX	0.907	1767	0.058	1	0.893	
2480108HX	0.906	1583	0.1	2	0.877	
2480109HX	0.916	2299	0.075	1	0.889	
2480110HX	0.91	1334	0.149	1	0.857	
2480111HX	0.916	1716	0.118	1	0.892	
2480112HX	0.921	3042	0.064	1	0.889	
2480113HX	0.912	1919	0.083	1	0.891	
2480114HX	0.908	1703	0.093	1	0.871	
2480115HX	0.904	1532	0.103	1	0.857	
2480116HX	0.911	2016	0.118	1	0.882	
2480117HX	0.912	1264	0.173	1	0.818	
2480118HX	0.907	1242	0.114	1	0.816	
2480119HX	0.912	2108	0.067	1	0.888	
2480120HX	0.908	1390	0.172	1	0.846	
2480121HX	0.913	1819	0.124	1	0.889	
2480122HX	0.91	1628	0.101	1	0.846	
2480123HX	0.906	1970	0.078	1	0.891	
2480124HX	0.911	2005	0.08	1	0.873	
2480125HX	0.912	1939	0.046	1	0.881	
2480126HX	0.905	1776	0.045	1	0.866	
2480127HX	0.909	1766	0.126	1	0.879	
2480128HX	0.912	2134	0.076	1	0.886	

### 3.4 数据分析结果

样本号	染色体结论	单基因结论	备注
2480065HX	阴性	COL2A1 (NM_001844.5):c.1381_1387del(p.A461Sfs*166)	
2480066HX	阴性	阴性	
2480067HX	阴性	阴性	

2480068HX	阴性	阴性	
2480069HX	阴性	阴性	
2480070HX	阴性	TSC2(NM_000548.5):c.5161-1G>C	
2480071HX	阴性	阴性	
2480072HX	阴性	阴性	
2480073HX	22q11.2 del(SZ=-7.42)	阴性	
2480074HX	阴性	阴性	
2480075HX	阴性	阴性	
2480076HX	阴性	阴性	
2480077HX	阴性	阴性	
2480078HX	阴性	阴性	
2480079HX	母亲 chr22:20721249-21075417de 1	阴性	
2480080HX	47XXY(SZ=5.93)	阴性	
2480081HX	阴性	阴性	
2480082HX	阴性	PTPN11(NM_002834.5):c.1472C>T( p.Pro491Leu)	
2480083HX	阴性	阴性	
2480084HX	阴性	阴性	
2480085HX	Trisomy 13(SZ=7.45)	阴性	
2480086HX	阴性	阴性	
2480087HX	5p15 del(SZ=-7.82)	阴性	
2480088HX	阴性	阴性	
2480089HX	阴性	阴性	
2480090HX	阴性	阴性	
2480091HX	47XXX(SZ=6.92)	母亲 SPECCL1(NM_015330.6):c.2612C>T (p.Pro871Leu)	
2480092HX	阴性	阴性	
2480093HX	阴性	阴性	
2480094HX	阴性	阴性	
2480095HX	阴性	阴性	
2480096HX	阴性	阴性	

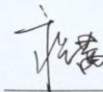
2480097HX	45X (SZ=-6.72)	阴性	
2480098HX	阴性	阴性	
2480099HX	阴性	阴性	
2480100HX	阴性	阴性	
2480101HX	Trisomy 18 (SZ=14.94)	阴性	
2480102HX	阴性	阴性	
2480103HX	阴性	阴性	
2480104HX	阴性	阴性	
2480105HX	阴性	阴性	
2480106HX	阴性	阴性	
2480107HX	阴性	阴性	
2480108HX	非单胎样本, T21 T18 T13 未见异常, 其它非整倍体和微缺失无结果	非单胎样本, 无结果	检出 TSC2 (NM_000548.5):c.3768_3769delGGinsC, (p. Ala1257Glnfs*68) 变异
2480109HX	阴性	阴性	
2480110HX	阴性	阴性	
2480111HX	阴性	阴性	
2480112HX	阴性	阴性	
2480113HX	阴性	阴性	
2480114HX	阴性	阴性	
2480115HX	阴性	阴性	
2480116HX	阴性	阴性	
2480117HX	阴性	阴性	
2480118HX	阴性	阴性	
2480119HX	阴性	阴性	
2480120HX	阴性	阴性	
2480121HX	阴性	阴性	
2480122HX	阴性	阴性	
2480123HX	阴性	阴性	
2480124HX	Trisomy 21 (SZ=12.04)	阴性	

2480125HX	阴性	阴性	
2480126HX	阴性	阴性	
2480127HX	阴性	阴性	
2480128HX	阴性	阴性	

#### 四、研究结果与分析：

64 例标本中有 2 例质控未通过：1 例提示为非单胎，检出 TSC2(NM\_000548.5):c.3768\_3769delGGinsC(p.Ala1257Glnfs\*68)变异，该样本实为双胎样本，产前诊断结果为 TSC2(NM\_000548.5):c.3768\_3769delGGinsC(p.Ala1257Glnfs\*68)变异；1 例提示母源 CNV，产前诊断结果为阴性。通过质控的 62 例标本：检测范围外的剩余 4 例阳性均未检出；检测范围内 11 例阳性标本全部检出，检测结果分别为 T21、T18、T13、22q11.2del、5p15del、45X、47XXX、47XXY、COL2A1(NM\_001844.5):c.1381\_1387del(p.A461Sfs\*166)、TSC2(NM\_000548.5):c.5161-1G>C、PTPN11(NM\_002834.5):c.1472C>T(p.Pro491Leu)各 1 例；其余阴性样本均报告阴性结果，与产前诊断结果一致。

项目负责人签字：\_\_\_\_\_



# 成都华西妇幼医学检验实验室 NIPT2.0 项目性能验证报告

试剂名称： 孕妇外周血胎儿游离 DNA 染色体非整倍体、  
微缺失和单基因病检测试剂盒（靶向捕获-高通量测序法）

规格型号：64 测试/套

项目负责人：王泓

2026 年 3 月 9 日

## 目 录

一、 验证目的 .....	1
二、 验证内容 .....	1
1. 对象 .....	1
2. 原理 .....	1
3. 样本要求 .....	2
三、 实验流程及质控结果 .....	3
1. 实验流程 .....	3
2. 文库构建结果 .....	3
3. 杂交捕获结果 .....	4
4. 环化结果 .....	4
5. Make DNB 结果 .....	4
6. 下机数据分析 .....	5
四、 性能验证总结 .....	7

## 一、验证目的

在成都华西妇幼医学检验实验室完成血浆游离 DNA 提取、文库构建、杂交捕获、环化以及测序上机等实验步骤，对孕妇外周血胎儿游离 DNA 染色体非整倍体、微缺失和单基因病检测项目进行性能验证。

## 二、验证内容

### 1. 对象

试剂名称：孕妇外周血胎儿游离 DNA 染色体非整倍体、微缺失和单基因病检测试剂盒（靶向捕获-高通量测序法）

试剂厂家：北京博昊云天科技有限公司

### 2. 原理

孕期母体外周血中胎儿游离 DNA 的发现，推动了无创产前筛查技术的发展及其临床应用(Lo et al., 1997)。胎儿游离 DNA 中包含有胎儿的完整的基因组信息，因此通过对其采用适当的检测方法，可以对胎儿罹患单基因显性遗传性疾病的风险进行非侵入式的筛查。在本检测中，首先将从孕妇血浆中提取的游离 DNA 进行末端修复，在 DNA 片段两端连接包含有分子标签和样本标签的接头，构建成为测序可识别的全基因组 DNA 文库。然后，将构建的 DNA 文库与标记有生物素的 DNA 单链探针进行杂交，捕获与探针互补的靶标游离 DNA 片段。杂交完成后，加入链霉亲和素标记磁珠，磁珠上的链霉亲和素与生物素标记的寡核苷酸探针-DNA 片段杂交复合物通过强非共价键作用结合。然后通过洗脱过程去除非靶区域序列及其它杂质，得到含靶区域特异性的捕获产物的文库。随后通过高温使捕获后的 DNA 文库变性成单链并环化形成单链环状 DNA，结合滚环扩增技术将单链环状 DNA 进行扩增形成扩增产物 DNA 纳米球。最后，对扩增产物 DNA 纳米球进行 DNA 末端终止边合成边测序反应，根据四种不同的荧光信号确认碱基种类读取 DNA 序列。本试剂盒采用靶向探针捕获目标染色体和单基因区域的 DNA 序列并结合高深度测序，检测可以造成严重出生缺陷的染色体非整倍体、染色体微缺失、显性单基因突变，实现了对胎儿基因组中 10 种染色体非整倍体疾病、13 种染色体微缺失综合征及 64 个基因 92 种显性单基因疾病的筛查。

### 3. 样本要求

准备 32 例血浆样本（详见表 1）和 2 条环化产物 JP464X 和 JP473，分别验证全流程以及测序仪，其中血浆样本中阳性样本在试剂盒检测范围内（详见附表 1）；血浆样本的样本量分别为 1.8mL，状态无溶血，环化产物产量分别为 13.26ng 和 19.02ng，符合试剂盒要求。

表 1 血浆样本表

序号	样本编号	样本类型	样本量 (mL)	变异类型
1	24B4100075	血浆	1.8	T21
2	24B4110070	血浆	1.8	阴性
3	25B4100104	血浆	1.8	阴性
4	25B4090078	血浆	1.8	15q11.2q13del
5	24B4100093	血浆	1.8	阴性
6	25B4090110	血浆	1.8	阴性
7	25B4090206	血浆	1.8	阴性
8	25B4060346	血浆	1.8	阴性
9	25B4100345	血浆	1.8	阴性
10	25B4070212	血浆	1.8	成骨不全高风险 COL1A2:NM_000089.4:c.2080G>A
11	25B4100083	血浆	1.8	阴性
12	25B4070720	血浆	1.8	阴性
13	25B4090363	血浆	1.8	阴性
14	25B4070183	血浆	1.8	阴性
15	25B4090236	血浆	1.8	阴性
16	25B4040315	血浆	1.8	阴性
17	25B4070459	血浆	1.8	阴性
18	25B4100223	血浆	1.8	阴性
19	25B4090085	血浆	1.8	阴性
20	25B4090418	血浆	1.8	阴性
21	25B4100172	血浆	1.8	阴性
22	25B4110260	血浆	1.8	多囊肾病 1 型高风险 PKD1:NM_001009944.3:c.7300C>T
23	25B4090564	血浆	1.8	阴性
24	25B4100175	血浆	1.8	阴性

25	25B4120172	血浆	1.8	结节性硬化症 1 型高风险 (母亲携带) TSC1:NM_000368.5:c.2863dup
26	25B4100030	血浆	1.8	阴性
27	25B4100103	血浆	1.8	阴性
28	25B4100176	血浆	1.8	T18
29	24B4100091	血浆	1.8	阴性
30	25B4090276	血浆	1.8	阴性
31	25B4100173	血浆	1.8	阴性
32	24B4100139	血浆	1.8	阴性

### 三、实验流程及质控结果

#### 1. 实验流程

按照《孕妇外周血胎儿游离 DNA 染色体非整倍体、微缺失和单基因病检测试剂盒 (靶向捕获-高通量测序法) 说明书》对准备好的 32 例血浆样本进行游离 DNA 提取、文库构建、杂交捕获以及环化, 与另外 2 条环化产物进行一张芯片的上机测序, 每个实验步骤质检合格后可进行下一步。

#### 2. 文库构建结果

文库构建结果如表 2 所示, 32 例血浆样本文库产量  $\geq 500\text{ng}$ , 符合质控要求文库产量  $\geq 500\text{ng}$ , 质控通过, 文库构建成功。

表 2 文库构建结果表

序号	样本编号	浓度 (ng/ $\mu\text{L}$ )	洗脱体积 ( $\mu\text{L}$ )	文库产量 (ng)	是否合格
1	202601280101	70.4	32	2112	是
2	202601280102	64	32	1920	是
3	202601280103	41.8	32	1254	是
4	202601280104	42	32	1260	是
5	202601280105	36	32	1080	是
6	202601280106	50.6	32	1518	是
7	202601280107	50	32	1500	是
8	202601280108	26.2	32	786	是
9	202601280109	67.8	32	2034	是
10	202601280110	78.6	32	2358	是
11	202601280111	69	32	2070	是
12	202601280112	51.2	32	1536	是
13	202601280113	43	32	1290	是
14	202601280114	83	32	2490	是

15	202601280115	71.6	32	2148	是
16	202601280116	78.8	32	2364	是
17	202601280201	57.8	32	1734	是
18	202601280202	81	32	2430	是
19	202601280203	43.4	32	1302	是
20	202601280204	79.8	32	2394	是
21	202601280205	60.8	32	1824	是
22	202601280206	67	32	2010	是
23	202601280207	99.6	32	2988	是
24	202601280208	77.6	32	2328	是
25	202601280209	71.8	32	2154	是
26	202601280210	86.6	32	2598	是
27	202601280211	44.6	32	1338	是
28	202601280212	71.2	32	2136	是
29	202601280213	56	32	1680	是
30	202601280214	68.6	32	2058	是
31	202601280215	31.8	32	954	是
32	202601280216	55.4	32	1662	是

### 3. 杂交捕获结果

杂交捕获每个文库的浓度分别为：HX001 浓度为 41.1ng/μL、HX002 浓度为 41ng/μL，质控范围 15ng/μL ≤ 文库浓度 ≤ 44ng/μL 为合格（16 例样本/lane），符合质控要求，质控通过，杂交捕获成功。

### 4. 环化结果

环化产物产量分别为：HX001 产量为 21.21ng、HX002 产量为 19.85ng，环化产物 > 6ng 以上为合格，符合质控要求，质控通过，环化成功。

### 5. Make DNB 结果

Make DNB 产量详见表 3，DNB 浓度 ≥ 8ng/μL 以上为合格，符合质控要求，质控通过，Make DNB 成功。

表 3 Make DNB 结果表

芯片分布	pool 名称	Make DNB 浓度 (ng/μL)	是否合格
Lane 01	HX001	16	是
Lane 02	HX002	14.8	是

Lane 03	HX003	16.1	是
Lane 04	HX004	16	是

## 6. 下机数据分析

下机数据质控结果见表 4, 每条 lane 均符合质控要求 (Q30 $\geq$ 85%, Total reads $\geq$ 400M)。

表 4 下机数据结果表

芯片分布	pool 名称	总数据量 Total reads (M)	Q30 (%)	是否合格
Lane 01	HX001	479.09	95.91	是
Lane 02	HX002	519.44	96.98	是
Lane 03	HX003	519.41	96.86	是
Lane 04	HX004	514.64	96.74	是

64 例回顾性样本结果均与历史结果比对如下表 5:

表 5 准确性评估表

序号	原始样本编号	本次样本编号	原始结果	本次实验结果	是否一致
1	25B4040315	202601280101	阴性	阴性	是
2	25B4090236	202601280102	阴性	阴性	是
3	25B4070183	202601280103	阴性	阴性	是
4	25B4090363	202601280104	阴性	阴性	是
5	25B4070720	202601280105	阴性	阴性	是
6	25B4100083	202601280106	阴性	阴性	是
7	25B4070212	202601280107	成骨不全高风险 COL1A2:NM_000089.4:c.2080G>A	成骨不全高风险 COL1A2:NM_000089.4:c.2080G>A	是
8	25B4100345	202601280108	阴性	阴性	是
9	25B4060346	202601280109	阴性	阴性	是
10	25B4090206	202601280110	阴性	阴性	是
11	25B4090110	202601280111	阴性	阴性	是
12	24B4100093	202601280112	阴性	阴性	是
13	25B4090078	202601280113	15q11.2q13del	15q11.2q13del	是
14	25B4100104	202601280114	阴性	阴性	是
15	24B4110070	202601280115	阴性	阴性	是
16	24B4100075	202601280116	T21	T21	是

17	24B4100139	202601280201	阴性	阴性	是
18	25B4100173	202601280202	阴性	阴性	是
19	25B4090276	202601280203	阴性	阴性	是
20	24B4100091	202601280204	阴性	阴性	是
21	25B4100176	202601280205	T18	T18	是
22	25B4100103	202601280206	阴性	阴性	是
23	25B4100030	202601280207	阴性	阴性	是
24	25B4120172	202601280208	结节性硬化症 1 型高风险 (母亲携带) TSC1:NM_000368.5:c.2863 dup	结节性硬化症 1 型高风险 (母亲携带) TSC1:NM_000368.5:c.286 3dup	是
25	25B4100175	202601280209	阴性	阴性	是
26	25B4090564	202601280210	阴性	阴性	是
27	25B4110260	202601280211	多囊肾病 1 型高风险 PKD1:NM_001009944.3:c.7 300C>T	多囊肾病 1 型高风险 PKD1:NM_001009944.3:c. 7300C>T	是
28	25B4100172	202601280212	阴性	阴性	是
29	25B4090418	202601280213	阴性	阴性	是
30	25B4090085	202601280214	阴性	阴性	是
31	25B4100223	202601280215	阴性	阴性	是
32	25B4070459	202601280216	阴性	阴性	是
33	26B4010021	202601280301	阴性	阴性	是
34	26B4010022	202601280302	阴性	阴性	是
35	26B4010023	202601280303	阴性	阴性	是
36	26B4010024	202601280304	阴性	阴性	是
37	26B4010025	202601280305	阴性	阴性	是
38	26B4010036	202601280306	马凡综合征高风险(母亲携 带) FBN1:NM_000138.5:c.3269 del	马凡综合征高风险(母亲 携带) FBN1:NM_000138.5:c.326 9del	是
39	26B4010037	202601280307	阴性	阴性	是
40	26B4010038	202601280308	阴性	阴性	是
41	26B4010039	202601280309	阴性	阴性	是
42	26B4010040	202601280310	阴性	阴性	是
43	26B4010041	202601280311	阴性	阴性	是
44	26B4010042	202601280312	阴性	阴性	是
45	26B4010043	202601280313	阴性	阴性	是
46	26B4010044	202601280314	阴性	阴性	是
47	26B4010045	202601280315	阴性	阴性	是
48	26B4010046	202601280316	阴性	阴性	是
49	25B4120394	202601280401	阴性	阴性	是
50	25B4120395	202601280402	阴性	阴性	是
51	25B4120396	202601280403	阴性	阴性	是



## 附件 5 NIPT2.0 前瞻性临床研究阶段性总结报告

孕妇外周血胎儿游离 DNA 染色体非整倍体、微缺失和单基因病检测试剂盒

(靶向捕获-高通量测序法)

### 前瞻性临床研究阶段性总结报告

#### 1 摘要

**研究目的:** 为验证北京博昊云天科技有限公司生产的“孕妇外周血胎儿游离 DNA 染色体非整倍体、微缺失和单基因病检测试剂盒(靶向捕获-高通量测序法)”(以下简称NIPT2.0试剂盒)的临床性能,通过收集全妊娠人群外周血浆样本,采用NIPT2.0试剂盒对胎儿的染色体非整倍体、微缺失以及显性单基因病进行产前筛查检测,将其筛查检测结果与产前诊断或随访的对比方法结果进行比较,分析评估NIPT2.0试剂盒的临床灵敏度/检出率、临床特异度、假阳性率、准确度、阳性预测值、阴性预测值及检测失败率等指标,从而验证NIPT2.0试剂盒的临床性能。

**入组情况:** 本前瞻性临床研究拟入组10000例样本,截至本阶段性总结报告撰写之日仍在继续开展中。本阶段性总结报告,涉及范围为2023年2月至2025年9月入组的5512例样本,数据尚未公开发表。其中,检测失败257例(257/5512, 4.66%;包括溶血、凝血、重复送样等97例,双胞胎、多胎、供卵、非孕妇等质控不达标104例,胎儿cfDNA百分数质控不达标56例),意外发现44例(母体CNV39例,肿瘤患者、多个区域异常等5例),无随访结果38例,共剔除样本数339例,纳入分析集的样本为5173例。

#### 结果分析:

**21 三体、18 三体、13 三体:** 各自的临床灵敏度/检出率均为100%,复合假阳性率为0.14%,复合阳性预测值为90.28%,检测失败率为4.66%,符合《孕妇外周血胎儿游离DNA产前筛查与诊断技术规范》(国卫办妇幼发〔2016〕45号)的各项要求。

**整体综合分析:** 全部目标疾病的复合临床灵敏度/复合检出率为98.45%,复合临床特异度为99.58%,复合假阳性率为0.42%,复合准确度为99.56%,复合阳性预测值为85.81%,复合阴性预测值为99.96%,Kappa值为0.9147,检测失败率为4.66%,临床性能良好,具备临床应用价值。

**项目来源:** 本前瞻性临床研究得到“十四五”国家重点研发计划“生育健康及妇女儿童健康保障”2023 年度专项“多种类型遗传疾病的无创产前同步式筛查新技术与临床研究(项目编号: 2023YFC2705600)”及北京市科学技术委员会北京市科技计划“首都临床特色诊疗技术研究及转化应用”专项“染色体和单基因病同步无创产前筛查新技术的临床评价及其应用指南研究”课题(Z221100007422012)等课题项目支持。

#### 2 产品基本信息

##### 2.1 产品名称

孕妇外周血胎儿游离 DNA 染色体非整倍体、微缺失和单基因病检测试剂盒(靶向捕获-高通量测序法)。

## 2.2 预期用途

用于定性检测孕周为12<sup>+</sup>0周及以上的单胎妊娠孕妇外周血浆中胎儿游离脱氧核糖核酸(DNA)，通过分析样本中胎儿游离21号、18号、13号、X等染色体的数量，22q11.2、1p36等染色体微缺失，以及PTPN11、FGFR3等单基因的变异情况，对胎儿的10种染色体非整倍体疾病、13种染色体微缺失综合征及64个基因92种显性单基因疾病进行产前筛查。本试剂盒用途为构建测序文库。

胎儿染色体非整倍体疾病中，如21三体、18三体及13三体是临床上常见的染色体非整倍体疾病，患儿绝大多数存在严重智力障碍及器官畸形。染色体结构异常主要包括微缺失，如22q11.2微缺失综合征(又称DiGeorge综合征，22q11.2del)，症状包括先天性心脏缺损、免疫缺陷和发育障碍等。单基因病是由单个基因变异导致的疾病，其种类繁多，综合发病率约1%，且多数严重单基因病没有有效治疗方法。

## 2.3 检测原理

孕期母体外周血中胎儿游离DNA的发现，推动了无创产前筛查技术的发展及其临床应用(Lo et al., 1997)。胎儿游离DNA中包含有胎儿的完整的基因组信息，因此通过对其采用适当的检测方法，可以对胎儿罹患单基因显性遗传性疾病的风险进行非侵入式的筛查。在本检测中，首先将从孕妇血浆中提取的游离DNA进行末端修复，在DNA片段两端连接包含有分子标签和样本标签的接头，构建成测序可识别的全基因组DNA文库。然后，将构建的DNA文库与标记有生物素的DNA单链探针进行杂交，捕获与探针互补的靶标游离DNA片段。杂交完成后，加入链霉亲和素标记磁珠，磁珠上的链霉亲和素与生物素标记的寡核苷酸探针-DNA片段杂交复合物通过强非共价键作用结合。然后通过洗脱过程去除非靶区域序列及其它杂质，得到含靶区域特异性的捕获产物的文库。随后通过高温使捕获后的DNA文库变性成单链并环化形成单链环状DNA，结合滚环扩增技术将单链环状DNA进行扩增形成扩增产物DNA纳米球。最后，对扩增产物DNA纳米球进行DNA末端终止边合成边测序反应，根据四种不同的荧光信号确认碱基种类读取DNA序列。本试剂盒采用靶向探针捕获目标染色体和单基因区域的DNA序列并结合高深度测序，检测可以造成严重出生缺陷的染色体非整倍体、染色体微缺失、显性单基因突变，实现了对胎儿基因组中10种染色体非整倍体疾病、13种染色体微缺失综合征及64个基因92种显性单基因疾病的筛查。

## 3 研究背景

出生缺陷是指婴儿出生前发生的身体结构、功能或代谢异常，是导致早期流产、死胎、婴幼儿死亡和先天残疾的主要原因。出生缺陷病种多，病因复杂，目前已知的出生缺陷超过8000种，基因突变等遗传因素和环境因素均可导致出生缺陷发生。据估算，我国出生缺陷总发生率约5.6%。出生缺陷严重影响儿童的生存和生活质量，给患儿及其家庭带来巨大痛苦和经济负担。

党中央、国务院历来高度重视防治出生缺陷、提高出生人口素质工作。国家“十三五”规划纲要和《“健康中国2030”规划纲要》明确指出要全面加强出生缺陷防控工作，预防和减少出生缺陷，是提高出生人口素质、推进健康中国建设的重要举措。2021年6月，《中共中央国务院关于优化生育政策促进人口长期均衡发展的决定》要求：“综合防治出生缺陷。健全出生缺陷防治网络，落实三级预防措施。加强相关知识普及和出生缺陷防控咨询，强化婚前保健，推进孕前优生健康检查，加强产前筛查和诊断，推动围孕期、产前产后一体化管理服务和多学科协作”。2021年12月14日，“国务院办公厅关于印发国家残疾预防行动计划(2021-2025年)的通知，该计划中明确指出“广泛开展产前筛查，加强对常见胎儿染色体

病、严重胎儿结构畸形、单基因遗传病等重大出生缺陷的产前筛查和诊断”。2023年《国家卫生健康委办公厅关于印发出生缺陷防治能力提升计划（2023-2027年）的通知》明确提出到2027年，实现以下主要目标：“出生缺陷防治服务更加普惠可及，三级预防措施覆盖率进一步提高”，“产前筛查率达到90%，筛查高风险孕妇产前诊断服务逐步落实”；并明确安排了重点任务：“规范产前筛查和产前诊断。落实产前筛查和产前诊断技术标准、规范和指南，规范新技术临床应用。加强产前筛查随访服务，提升筛查高风险孕妇产前诊断率，规范遗传咨询。强化孕妇外周血胎儿游离DNA产前筛查检测后咨询及处置，对检测结果为高风险的孕妇，要全面落实产前诊断措施。开展产前筛查与产前诊断典型病案剖析和分享。规范胎儿宫内疾病诊断和治疗，促进胎儿医学技术在出生缺陷防治领域应用。”

染色体的数目、结构异常（包括染色体微小片段的缺失、重复、倒位、易位、插入）以及基因突变是导致人类遗传病的主要因素。随着高通量测序技术（next-generation sequencing, NGS）的发明与发展，孕妇外周血行胎儿非整倍体评估的NIPT技术使产前筛查步入更为广阔的发展空间。NIPT主要的检测范围为胎儿的21-三体综合征、18-三体综合征、13-三体综合征，与传统的血清学筛查相比较而言有着更高的准确性及更低的假阳性率。NIPT具有高敏感性、高特异性、低假阳性率及无创性等优点使其在国内外广泛应用于临床。2016年，卫计委（今卫健委）在总结前期开展NIPT试点经验的基础上，经过广泛研究论证，印发《关于规范有序开展孕妇外周血胎儿游离DNA产前筛查与诊断工作的通知》及《孕妇外周血胎儿游离DNA产前筛查与诊断技术规范》，明确将NIPT检测技术作为介于血清学筛查和羊水穿刺染色体核型分析之间的二次筛查手段，是对常规产前筛查和产前诊断技术的有益补充。

但随着对NGS技术的深入研究以及临床产前筛查需求的快速衍变，仅实施NIPT检测T13、T18、T21已经越来越无法满足临床出生缺陷二级预防需求的变化，对于产前筛查性染色体非整倍体以及除13、18、21号染色体外的罕见常染色体数目异常检测效能并不高。很多公司已经开发出覆盖常见的三大染色体、性染色体及部分已明确的高发微缺失微重复综合征的无创检测项目（NIPT Plus），但仍未解决高发的小片段染色体微缺失/重复疾病、葡萄胎等产前常见的遗传性出生缺陷筛查的难题，也不能对单基因病进行同步筛查。基于庞大的诊疗需求，迫切需要针对多种胎儿染色体非整倍体、染色体微缺失微重复及单基因疾病的联合检测技术。

本研究项目的前期研究团队采用无偏向的协同等位基因靶标富集和下一代测序新技术，研发形成新一代三合一无创产前筛查技术“孕妇外周血胎儿游离 DNA 染色体非整倍体、微缺失和单基因病检测”（NIPT2.0 技术），首次实现了对胎儿染色体非整倍体、染色体微缺失/重复疾病和单基因显性遗传病的同步准确无创产前筛查。基于cfDNA的靶向捕获高深度测序的NIPT2.0技术目前已克服了传统的低深度全基因组测序的局限，提高了染色体非整倍体及染色体微缺失/微重复检测的准确性，并将筛查范围扩展至部分常染色体显性单基因遗传病。一项回顾性临床研究的结果显示，NIPT2.0灵敏度为100%，特异性为99.3%（XU Chenming, et al. *Cell Discovery*, 2022）。另一项多中心前瞻性临床研究显示NIPT2.0具有很高的筛查效率和准确性，相较于传统的仅针对染色体异常的筛查，NIPT2.0技术将目标单基因遗传病与染色体异常同时纳入筛查范围，使遗传变异的检出率提高了60.7%；在入组的NIPT Plus筛查提示胎儿染色体病高风险的孕妇中，NIPT2.0可将PPV从40.7%提高到85.4%（ZHANG Jinglan, et al. *Nature Medicine*, 2024）。NIPT2.0可以提供更全面的胎儿遗传病风险评估。对于此前只能在孕晚期通过超声筛查发现的诸如软骨发育不全等或者无明显超声异常的常染色体显性单基因遗传病，NIPT2.0能够在更早的孕周了解胎儿患病的风险，帮助临床及早决策。进一步进行多中心、大样本、基于孕妇普筛的临床研究，对于明确 NIPT2.0 技术在大规模人群中遗传性出生缺陷的防控效能，规范其临床应用路径，推动 NIPT2.0 技术更大范围的临床应用，具有十分重要的意义。

#### 4 研究实施

##### 4.1 试验设计

###### 4.1.1 试验方法

本试验计划纳入10000例全妊娠人群样本。

NIPT2.0试剂盒检测所用样本经脱敏、编盲后，按照《孕妇外周血胎儿游离 DNA 染色体非整倍体、微缺失和单基因病检测试剂盒（靶向捕获-高通量测序法）说明书》进行检测，并记录检测结果。

进行产前筛查检测，将其筛查检测结果与产前诊断或妊娠随访结局的对比方法结果进行比较，分析评估NIPT2.0试剂盒的临床灵敏度/检出率、临床特异度、假阳性率、准确度、阳性预测值、阴性预测值及检测失败率等指标，从而验证NIPT2.0试剂盒的临床性能。

###### 4.1.2 对比方法

若孕妇按照正常产检路径进行的常规产检结果为高风险和/或NIPT2.0技术筛查结果为高风险，则：（1）按现有常规临床方案进行介入性产前诊断手术，采集羊水等标本，细胞培养后开展染色体核型分析（没有进行核型分析的，也可采用其他分子诊断结果）；（2）若孕妇出现不良妊娠结局，则采集流产组织；（3）若孕妇正常分娩，如表观学检测可确认的，则记录表观特征随访结果；如表观学检测不可确认，则采集脐带血/新生儿全血等标本。对于羊水/羊水培养细胞、流产组织、脐带血/新生儿全血等标本，提取核酸后，进行基因组拷贝数变异测序（CNV-seq）或一代测序、全外显子测序（WES）等方法中的一种或多种方法学验证。参见表1。

表1 对比方法

妊娠阶段	对比方法	观察对象	疾病类型	诊断结果判读
产前	介入性产前诊断/ 不良妊娠结局随访	羊水/羊水培养细胞 流产组织	染色体非整倍体	以介入性产前诊断结果（核型分析）为准
			染色体微缺失	以介入性产前诊断结果（CNV-Seq）或流产组织分子诊断结果（CNV-Seq）为准，辅以超声等影像学随访结果等综合判断
			单基因显性遗传病	以介入性产前诊断结果（一代测序/WES）或流产组织分子诊断结果（一代测序/WES）为准，辅以超声等影像学随访结果等综合判断
产后	出生后随访	新生儿/脐带血/新生儿全血	全部三类	以出生后随访结果（新生儿表观特征随访结果和/或临床诊断结果）为准。临床诊断结果包括核型分析、CNV-Seq、一代测序和/或 WES 等结果

###### 4.1.3 技术路线

本前瞻性临床研究的技术路线见图1。

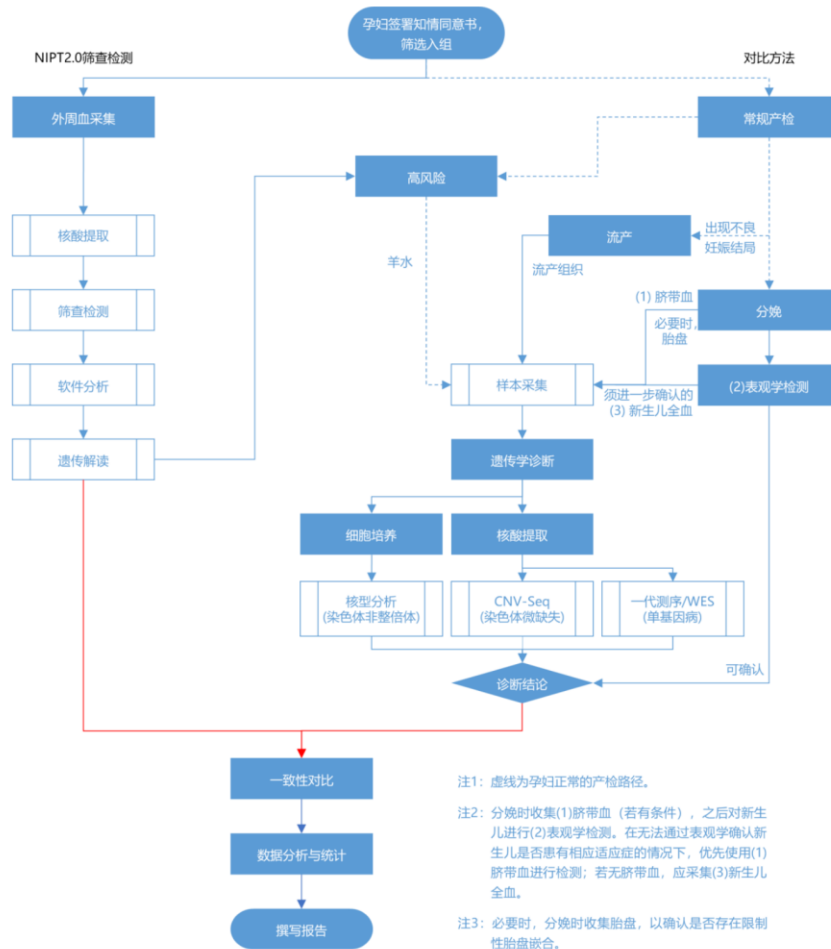


图1 NIPT2.0前瞻性临床研究技术路线图

## 4.2 受试者选择

### 4.2.1 适用人群

NIPT2.0适用于孕周为 $12^{+0}$ 周及以上的单胎妊娠孕妇, 含通过IVF-ET方式单胚胎移植受孕并成功妊娠的孕妇。适宜的筛查孕周为 $12^{+0} \sim 22^{+6}$ 周。对于孕周 $> 22^{+6}$ 周者且孕妇自愿进行筛查且自愿承担风险者可放宽, 由于存在产前诊断和临床决策时间较晚的风险, 在检测前咨询时应充分告知。

#### 4.2.2 慎用人群

有下列情形的孕妇进行检测时,当目标胎儿个体的胎儿百分数能够达到最低检测限要求时,检测结果是准确可靠的,反之,则检测的检出率、假阳性率、失败率等较适用人群存在效能下降的情况;或按有关规定应建议其进行产前诊断的情形,具体包括:

- a) 双胎妊娠;
- b) 重度肥胖 (BMI>40);
- c) 既往有遗传异常胎儿孕育史,但夫妇双方均无明确的染色体异常或基因变异者;对于父系单基因变异导致不良孕产史的孕妇,应结合其他的临床检查(如胎儿影像学检查)的结果考虑是否使用 NIPT2.0 或进行产前诊断;
- d) 对于有孕妇高龄(预产年龄 $\geq 35$ 岁)、血清学筛查高风险等产前诊断指征,在进行充分的遗传咨询后,明确拒绝介入性产前诊断并选择继续妊娠者;
- e) 通过 IVF-ET 方式受孕的单胎孕妇,但单胚胎移植后成功妊娠孕妇应除外;
- f) 孕周 $\leq 8^+6$ 周时,因胚胎/胎儿停育情况,多胎、双胎减胎后(自然或者人工)为单胎者;
- g) 医师认为可能影响结果准确性的其他情形。

#### 4.2.3 不适用人群

有下列情形的孕妇进行筛查检测时,可能严重影响结果准确性,具体包括:

- a) 孕周 $< 12^+0$ 周;
- b) 夫妇一方或双方具有明确的染色体异常或基因变异,应对其推荐进行产前诊断;
- c) 对于有家族史或不良孕产史,胎儿罹患相关遗传性疾病风险升高的孕妇,宜在明确先证者的遗传病因后对其进行产前诊断;
- d) 对于影像学检查提示有胎儿结构异常的孕妇,应进行产前诊断;
- e) 过去一个月内曾接受免疫治疗,或过去一年内曾接受异体输血、移植手术、异体细胞治疗、干细胞治疗等;
- f) 孕期合并恶性肿瘤;
- g) 三胎或三胎以上的妊娠;
- h) 孕周 $> 8^+6$ 周时,因胚胎/胎儿停育情况,多胎、双胎减胎后(自然或者人工)为单胎者;
- i) IVF-ET 捐赠供卵或其他亲缘关系不符的孕妇;
- j) 医师认为明显影响结果准确性的其他情形。

#### 4.3 样本要求

##### 4.3.1 样本类型

外周血血浆。

##### 4.3.2 样本采集

- a) 采用唯一编号对采血管(游离核酸常温运输保存管)进行标识。建议采血管采用条形码作为唯一编号标识,该编号应当与知情同意书和送检单上的编号一致;
- b) 按照无菌操作要求,使用采血管(游离核酸常温运输保存管)采集孕 $12^+0$ 周及以上孕妇外周血 10mL;
- c) 采集完毕后,轻柔颠倒 8-10 次使血液与采血管(游离核酸常温运输保存管)中试剂充分混匀并常温(15-30 $^{\circ}\text{C}$ )保存,采集后的样本须在 96 小时内进行血浆分离。

#### 4.3.3 血浆分离

通过两步离心法实现血浆的分离，具体步骤如下：

- a) 预冷低速离心机，温度设置为 4°C，待温度稳定后，放入采血管，1600g 离心 15 分钟，吸取上清血浆（注意不要吸到中间层的白细胞及红细胞），转移至置于冰盒上的 5mL 离心管中，标记相应的样本编号；
- b) 预冷高速离心机，温度设置为 4°C，待温度稳定后，将上一步骤得到的血浆以 16000g 离心 10 分钟去除残余细胞，将上清液转入若干新的 2.0mL 离心管中（注意不要吸到管底的白细胞），每管体积均为 1.85mL，同时每个 2.0mL 离心管上标记样本编号、血浆体积、日期，并做好样本信息记录。

#### 4.3.4 保存与运输

- a) **全血样本**：游离核酸常温运输保存管采集的外周血于常温（15-30°C）条件下运输和保存。运输过程中须采取防震装置，避免全血样本在运输过程中出现剧烈震荡。为保持被检测样本中胎儿游离 DNA 比例，全血样本的要求为采集后置于常温（15-30°C）保存，并且须在 96 小时内完成血浆分离；
- b) **血浆样本**：分离后的血浆样本于干冰条件下运输，须确保样本送达时有足够量的剩余干冰，且有缓冲装置，避免样本管在运输过程中被干冰冰块破坏，样本送达后及时放入 -20±5°C 或 -80±10°C 的环境中保存。血浆样本在 -20±5°C 条件下短暂保存时间不应超过 7 天；在 -80±10°C 条件下可以保存 2 年；血浆反复冻融次数不应超过 3 次。

#### 4.4 样本量

本研究根据受试者及样本情况，计划纳入不少于 10000 例的检测样本，不同年龄段的受试者应按自然比例分布。

#### 4.5 试验过程

##### 4.5.1 NIPT2.0 筛查检测过程

按照《孕妇外周血胎儿游离 DNA 染色体非整倍体、微缺失和单基因病检测试剂盒（靶向捕获-高通量测序法）说明书》、相关标准操作规程和质量控制程序进行具体试验操作。

##### 4.5.2 对比方法试验过程

对比方法的相关检测按照标准操作规程进行。

#### 5 研究管理

##### 5.1 质量控制

- a) 根据试验方案的适用人群、慎用人群、不适用人群标准对受试者及其样本进行筛选入组，减少选择性偏倚；
- b) 试验过程中，在样本检测前对样本进行编盲，避免试验操作研究者和结果判读研究者提前知晓受试者的其他检测结果而引入偏倚；
- c) 参加试验的各方均按标准操作规程和质量控制程序进行操作；
- d) 试验完成时，做好数据保管与整理工作，当发现数据问题时，数据审核人员对数据进行核对确认，避免记录误差；

- e) 试验数据应具有可追溯性，数据表中的数据可以追溯至源文件；
- f) 试验中待评价试剂及其配套使用的其他试剂和仪器、设备等的运输、使用、储存等，均应符合相关要求。

## 5.2 数据管理

- a) 研究者根据受试者的原始资料，将数据及时、完整、正确、真实地予以记录；
- b) 临床试验源数据不得随意更改；确需作更改时应当说明理由，签名并注明日期；
- c) 试验样本应具有唯一的可溯源编号，每一份样本应可溯源至唯一受试者；
- d) 临床试验的源数据包括：所使用的试剂和仪器的信息，包括名称、规格/型号、批号/序列号、数量、接收日期、储存条件、使用情况及剩余试剂的处理等；受试者筛选入选记录、受试者基本信息（如年龄、孕周等），临床诊疗信息、样本检验记录以及不良事件等；试验用样本来源、编号、保存、使用、留存、销毁等各环节的完整记录；记录者的签名及日期。

## 6 统计分析方法

### 6.1 样本剔除标准

- a) 受试者不符合本研究的适用人群标准或符合不适用人群标准而被错误入选；
- b) 受试者依从性差，研究者决定其退出的；
- c) 无论何种原因，受试者不愿意或不可能继续进行本研究，向研究者提出退出本研究的要求而终止者；
- d) 受试者虽未明确提出退出本研究，但不再接受随访者；
- e) 无法获得有效检测结果或检测结果缺失的样本，或无法获取对比方法结果（介入性产前诊断结果或随访结果）的样本；
- f) 发生严重微生物、化学物质污染或严重溶血的样本；
- g) 样本入组后，由于人为差错导致无法复检的样本；
- h) 样本量不足、样本 DNA 提取后纯度或含量不足的样本；
- i) 非人为因素导致的试剂出现质量问题且无法复检的样本；
- j) 重复入组的样本；
- k) 产前诊断证实胎儿是嵌合突变的样本；
- l) 研究者认为其他需要剔除的情况。

### 6.2 统计分析方法

将NIPT2.0筛查检测结果与产前诊断或随访的对比方法结果进行染色体非整倍体、微缺失及单基因变异的结果比较（见表2），分析评估NIPT2.0的临床灵敏度/检出率、临床特异度、假阳性率、准确度、阳性预测值、阴性预测值及检测失败率等指标，以及对应的95%置信区间。

表2 检测结果四格表

NIPT2.0	对比方法		合计
	阳性	阴性	
阳性	a	b	a+b (r <sub>1</sub> )
阴性	c	d	c+d (r <sub>2</sub> )
合计	a+c (c <sub>1</sub> )	b+d (c <sub>2</sub> )	a+b+c+d (n)

计算公式:

临床灵敏度/检出率 =  $a / (a + c) * 100\%$

临床特异度 =  $d / (b + d) * 100\%$

假阳性率 =  $b / (b + d) * 100\% = 100\% - \text{临床特异度}$

准确度 =  $(a + d) / (a + b + c + d) * 100\%$

阳性预测值 =  $a / (a + b) * 100\%$

阴性预测值 =  $d / (c + d) * 100\%$

Kappa值 =  $[n(a + d) - (r_1 c_1 + r_2 c_2)] / [n^2 - (r_1 c_1 + r_2 c_2)]$

95%置信区间采用 Wilson Score 法计算。

检测失败率 = 由于凝血、溶血、DNA 质量控制不合格等标本原因造成的检测失败例数 / 入组总例数 \* 100%

7 阶段性研究成果

7.1 入组及剔除情况

2023年2月至2025年9月, 共计入组的5512例样本。其中, 剔除样本339例:

- a) 由于凝血、溶血、DNA 质量控制不合格等标本原因造成检测失败的样本 257 例 (检测失败率为 4.66% (257/5512)), 包括: 样本溶血、凝血、重复送样等 97 例; 双胞胎、多胎、供卵、非孕妇等质量控制不合格的样本 104 例; 胎儿百分数质量控制不合格的样本 56 例;
- b) 符合不适用人群标准的样本 44 例, 包括: 夫妇一方或双方具有明确的染色体异常或基因变异样本 39 例; 孕期合并恶性肿瘤、多个区域异常等样本 5 例;
- c) 无法获取对比方法结果的样本 38 例。

最终纳入分析的样本例数为5173例。

入组及剔除情况总体情况如下图2。

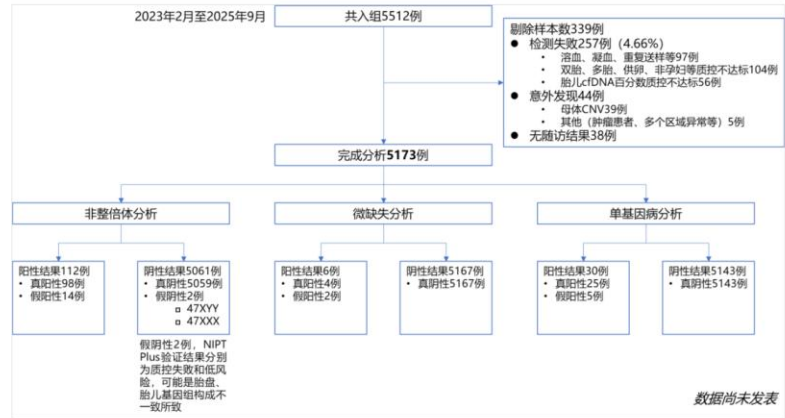


图2 入组及剔除情况总体情况

## 7.2 NIPT2.0 检测阳性结果情况

符合要求纳入分析的5173例样本中，共检测出阳性病例148例，其中真阳性例数127例，复合阳性预测值为85.81%。

符合要求纳入分析的5173例样本中，检测出染色体非整倍体阳性病例112例，其中真阳性例数98例，复合阳性预测值为87.50%。

表3 NIPT2.0 检测阳性结果情况（染色体非整倍体）

染色体疾病名称	阳性例数（真阳性例数）	复合阳性预测值（PPV）
21三体综合征	49（49）	100.00%
18三体综合征	13（10）	76.92%
13三体综合征	10（6）	60.00%
22号染色体三体	1（1）	100.00%
16号染色体三体	1（1）	100.00%
性染色体非整倍体	38（31）	81.57%
总阳性样本数	112（98）	87.50%

符合要求纳入分析的5173例样本中，检测出染色体微缺失阳性病例6例，其中真阳性例数4例，复合阳性预测值为66.67%。

表4 NIPT2.0 检测阳性结果情况（染色体微缺失）

染色体疾病名称	阳性例数（真阳性例数）	复合阳性预测值（PPV）
DiGeorge 综合征（22q11.2）	2（1）	50.00%
9p缺失综合征	1（1）	100.00%
Cri du Chat 综合征	1（1）	100.00%
Prader-Willi综合征	1（1）	100.00%
2q33缺失综合征及DiGeorge综合征	1（0）	—
总阳性样本数	6（4）	66.67%

符合要求纳入分析的5173例样本中，检测出显性单基因遗传病阳性病例30例，其中真阳性例数25例，复合阳性预测值为83.33%。

表5 NIPT2.0 检测阳性结果情况（显性单基因遗传病）

单基因疾病名称	相关基因	阳性例数（真阳性例数）	阳性预测值PPV
软骨发育不全	<i>FGFR3</i>	8（8）	100.00%
Muenke综合征	<i>FGFR3</i>	1（1）	100.00%
神经纤维瘤1型	<i>NF1</i>	4（2）	50.00%

单基因疾病名称	相关基因	阳性例数 (真阳性例数)	阳性预测值PPV
CHARGE综合征	<i>CHD7</i>	2 (2)	100.00%
努南综合征1型	<i>PTPN11</i>	3 (3)	100.00%
Kabuki综合征1型	<i>KMT2D</i>	1 (0)	—
Pfeiffer综合征/Crouzon综合征	<i>FGFR2</i>	1 (1)	100.00%
Cornelia de Lange综合征5型	<i>HDAC8</i>	1 (0)	—
软骨成长不全II型或软骨发育不良	<i>COL2A1</i>	1 (1)	100.00%
结节性硬化2型	<i>TSC2</i>	1 (1)	100.00%
Greig末端多发指综合征	<i>GLI3</i>	1 (1)	100.00%
多囊肾病1型	<i>PKD1</i>	1 (1)	100.00%
Loeys-Dietz综合征1型	<i>TGFBR1</i>	1 (1)	100.00%
Loeys-Dietz综合征2型	<i>TGFBR2</i>	1 (1)	100.00%
颅缝早闭3型	<i>TCF12</i>	1 (1)	100.00%
心面皮肤综合征3型	<i>MAP2K1</i>	1 (1)	100.00%
早期婴儿型癫痫性脑病2型	<i>CDKL5</i>	1 (0)	—
总阳性样本数	—	30 (25)	83.33%

### 7.3 NIPT2.0 与对比方法的一致性分析

#### 7.3.1 染色体非整倍体

##### 7.3.1.1 21 三体综合征

对符合要求的5173例样本的21三体结果进行统计分析，NIPT2.0与对比方法的结果对比，临床灵敏度/检出率为100.00%，临床特异度为100.00%，假阳性率为0.00%，准确度为100.00%，阳性预测值为100.00%，阴性预测值为100.00%，Kappa值为1.0000。

表6 NIPT2.0 与对比方法结果 2×2 列表分析 (21 三体)

NIPT2.0 结果	对比方法结果		合计
	阳性	阴性	
阳性	49	0	49
阴性	0	5124	5124
合计	49	5124	5173
分析指标	分析结果 (95%CI)		
临床灵敏度/检出率	100.00% (92.73%-100.00%)		
临床特异度	100.00% (99.93%-100.00%)		

假阳性率	0.00% (0.00%-0.07%)
准确度	100.00% (99.93%-100.00%)
阳性预测值	100.00% (92.73%-100.00%)
阴性预测值	100.00% (99.93%-100.00%)
Kappa	1.0000

### 7.3.1.2 18 三体综合征

对符合要求的5173例样本的18三体结果进行统计分析，NIPT2.0与对比方法的结果对比，临床灵敏度/检出率为100.00%，临床特异度为99.94%，假阳性率为0.06%，准确度为99.94%，阳性预测值为76.92%，阴性预测值为100.00%，Kappa值为0.8693。

表7 NIPT2.0 与对比方法结果 2×2 列表分析 (18 三体)

NIPT2.0 结果	对比方法结果		合计
	阳性	阴性	
阳性	10	3	13
阴性	0	5160	5160
合计	10	5163	5173
分析指标	分析结果 (95%CI)		
临床灵敏度/检出率	100.00% (72.25%-100.00%)		
临床特异度	99.94% (99.83%-99.98%)		
假阳性率	0.06% (0.02%-0.17%)		
准确度	99.94% (99.83%-99.98%)		
阳性预测值	76.92% (49.74%-91.82%)		
阴性预测值	100.00% (99.93%-100.00%)		
Kappa	0.8693		

### 7.3.1.3 13 三体综合征

对符合要求的5173例样本的13三体结果进行统计分析，NIPT2.0与对比方法的结果对比，临床灵敏度/检出率为100.00%，临床特异度为99.92%，假阳性率为0.08%，准确度为99.92%，阳性预测值为60.00%，阴性预测值为100.00%，Kappa值为0.7496。

表8 NIPT2.0 与对比方法结果 2×2 列表分析 (13 三体)

NIPT2.0 结果	对比方法结果		合计
	阳性	阴性	
阳性	6	4	10

阴性	0	5163	5163
合计	6	5167	5173
分析指标	分析结果 (95%CI)		
临床灵敏度/检出率	100.00% (60.97%-100.00%)		
临床特异度	99.92% (99.80%-99.97%)		
假阳性率	0.08% (0.03%-0.20%)		
准确度	99.92% (99.80%-99.97%)		
阳性预测值	60.00% (31.27%-83.18%)		
阴性预测值	100.00% (99.93%-100.00%)		
Kappa	0.7496		

#### 7.3.1.4 三项常规三体综合分析

对符合要求的5173例样本的三项常规三体结果进行综合统计分析，NIPT2.0与对比方法的结果对比，复合临床灵敏度/复合检出率为100.00%，复合临床特异度为99.86%，复合假阳性率为0.14%，复合准确度为99.86%，复合阳性预测值为90.82%，复合阴性预测值为100.00%，Kappa值为0.9482。

表9 NIPT2.0 与对比方法结果 2×2 列表分析（三项常规三体综合分析）

NIPT2.0 结果	对比方法结果		合计
	阳性	阴性	
阳性	65	7	72
阴性	0	5101	5101
合计	65	5108	5173
分析指标	分析结果 (95%CI)		
复合临床灵敏度/ 复合检出率	100.00% (94.42%-100.00%)		
复合临床特异度	99.86% (99.72%-99.93%)		
复合假阳性率	0.14% (0.07%-0.28%)		
复合准确度	99.86% (99.72%-99.93%)		
复合阳性预测值	90.82% (81.26%-95.21%)		
复合阴性预测值	100.00% (99.92%-100.00%)		
Kappa	0.9482		

### 7.3.1.5 全部目标非整倍体的综合分析

对符合要求的5173例样本的全部目标非整倍体结果进行综合统计分析，NIPT2.0与对比方法的结果对比，复合临床灵敏度/复合检出率为98.00%，复合临床特异度为99.72%，复合假阳性率为0.28%，复合准确度为99.69%，复合阳性预测值为87.50%，复合阴性预测值为99.96%，Kappa值为0.9230。

表10 NIPT2.0 与对比方法结果 2×2 列表分析（全部目标非整倍体综合分析）

NIPT2.0 结果	对比方法结果		合计
	阳性	阴性	
阳性	98	14	112
阴性	2	5059	5061
合计	100	5073	5173
分析指标	分析结果（95%CI）		
复合临床灵敏度/ 复合检出率	98.00%（93.00%-99.45%）		
复合临床特异度	99.72%（99.54%-99.84%）		
复合假阳性率	0.28%（0.16%-0.46%）		
复合准确度	99.69%（99.50%-99.81%）		
复合阳性预测值	87.50%（80.11%-92.41%）		
复合阴性预测值	99.96%（99.86%-99.99%）		
Kappa	0.9230		

### 7.3.2 染色体微缺失综合分析

对符合要求的5173例样本的染色体微缺失结果进行综合统计分析，NIPT2.0与对比方法的结果对比，复合临床灵敏度/复合检出率为100.00%，复合临床特异度为99.96%，复合假阳性率为0.04%，复合准确度为99.96%，复合阳性预测值为66.67%，复合阴性预测值为100.00%，Kappa值为0.7998。

表11 NIPT2.0 与对比方法结果 2×2 列表分析（染色体微缺失综合分析）

NIPT2.0 结果	对比方法结果		合计
	阳性	阴性	
阳性	4	2	6
阴性	0	5167	5167
合计	4	5169	5173
分析指标	分析结果（95%CI）		

复合临床灵敏度/ 复合检出率	100.00% (51.01%-100.00%)
复合临床特异度	99.96% (99.86%-99.99%)
复合假阳性率	0.04% (0.01%-0.14%)
复合准确度	99.96% (99.86%-99.99%)
复合阳性预测值	66.67% (30.00%-90.32%)
复合阴性预测值	100.00% (99.93%-100.00%)
Kappa	0.7998

### 7.3.3 显性单基因遗传病综合分析

对符合要求的5173例样本的显性单基因遗传病结果进行综合统计分析，NIPT2.0与对比方法的结果对比，复合临床灵敏度/复合检出率为100.00%，复合临床特异度为99.90%，复合假阳性率为0.10%，复合准确度为99.90%，复合阳性预测值为83.33%，复合阴性预测值为100.00%，Kappa值为0.9086。

表12 NIPT2.0 与对比方法结果 2×2 列表分析（显性单基因遗传病综合分析）

NIPT2.0 结果	对比方法结果		合计
	阳性	阴性	
阳性	25	5	30
阴性	0	5143	5143
合计	25	5148	5173
分析指标	分析结果（95%CI）		
复合临床灵敏度/ 复合检出率	100.00% (86.68%-100.00%)		
复合临床特异度	99.90% (99.77%-99.96%)		
复合假阳性率	0.10% (0.04%-0.23%)		
复合准确度	99.90% (99.77%-99.96%)		
复合阳性预测值	83.33% (66.44%-92.66%)		
复合阴性预测值	100.00% (99.93%-100.00%)		
Kappa	0.9086		

### 7.3.4 整体综合分析

对符合要求的5173例样本的全部目标疾病结果进行综合统计分析，NIPT2.0与对比方法的结果对比，复合临床灵敏度/复合检出率为98.45%，复合临床特异度为99.58%，复合假阳

性率为0.42%，复合准确度为99.56%，复合阳性预测值为85.81%，复合阴性预测值为99.96%，Kappa值为0.9147。

表13 NIPT2.0 与对比方法结果 2×2 列表分析（全部目标疾病综合分析）

NIPT2.0 结果	对比方法结果		合计
	阳性	阴性	
阳性	127	21	148
阴性	2	5023	5025
合计	129	5044	5173
分析指标	分析结果（95%CI）		
复合临床灵敏度/ 复合检出率	98.45%（94.52%-99.57%）		
复合临床特异度	99.58%（99.36%-99.73%）		
复合假阳性率	0.42%（0.27%-0.64%）		
复合准确度	99.56%（99.33%-99.70%）		
复合阳性预测值	85.81%（79.28%-90.53%）		
复合阴性预测值	99.96%（99.85%-99.99%）		
Kappa	0.9147		

#### 7.4 不一致结果分析

NIPT2.0与对比方法的结果对比，共有21例假阳性结果和2例假阴性结果。

##### 7.4.1 染色体非整倍体

NIPT2.0与介入性产前诊断（羊水穿刺后进行CNV-seq检测）和/或随访结果对比，有14例染色体非整倍体假阳性结果。其中13例检测结果与临床常规无创产前筛查（NIPT）结果一致，不排除由于限制性胎盘嵌合（即胎儿正常，胎盘发生相应染色体变异）造成。

表14 染色体非整倍体 14 例假阳性结果分析

序号	年龄	孕周	临床症状	NIPT2.0检测结果	对比方法	随访检测结果
1	36岁	19周 4天	无创产前筛查：18三体高风险 Z: 15.032	T18	CNV-seq	阴性
2	无	20周 6天	无创产前筛查：18三体高风险	T18	CNV-seq	阴性
3	35岁	18周 1天	无创产前筛查：18三体高风险 Z: 7.0	T18	CNV-seq	阴性
4	31岁	16周 5天	无创产前筛查：13 三体高风险 (Z=4.763)	T13	CNV-seq	阴性

序号	年龄	孕周	临床症状	NIPT2.0检测结果	对比方法	随访检测结果
5	33岁	12周4天	无创产前筛查：13 三体高风险	T13	-	阴性
6	28岁	无	无创产前筛查：13 三体高风险	T13	CNV-seq	阴性
7	39岁	18周	无创产前筛查：13 三体高风险	T13	CNV-seq	阴性
8	无	无	无创产前筛查：性染色体数目偏少	性染色体非整倍体	-	阴性
9	无	24周	无创产前筛查：性染色体数目偏少	性染色体非整倍体	CNV-seq	阴性
10	37岁	19周2天	无创产前筛查：阴性	性染色体非整倍体	CNV-seq	阴性
11	30岁	17周5天	无创产前筛查高风险：性染色体数目偏少	性染色体非整倍体	CNV-seq	阴性
12	31岁	17周2天	无创产前筛查：性染色体数目异常	性染色体非整倍体	CNV-seq	阴性
13	30岁	16周	无创产前筛查高风险：性染色体数目偏少	性染色体非整倍体	CNV-seq	阴性
14	33岁	18周2天	无创产前筛查高风险：性染色体数目偏少	性染色体非整倍体	-	阴性

NIPT2.0与介入性产前诊断（羊水穿刺后进行CNV-seq检测）和随访结果对比，有2例性染色体非整倍体假阴性结果。

表15 性染色体非整倍体 2 例假阴性结果分析

门诊号	年龄	孕周	临床症状	NIPT2.0检测结果	对照方法	随访检测结果	NIPT Plus验证结果
1496160	41岁	16周1天	-	低风险	CNV-seq	47XYY	胎儿百分数质控失败
3005529	29岁	20周0天	-	低风险	CNV-seq	47XXX	低风险

样本1496160：两次NIPT2.0结果均为低风险，未见Y染色体增多。2次临床常规无创产前筛查（NIPT）检测均失败，常规扩展性无创产前筛查（NIPT Plus）与NIPT一样，胎儿百分数只有1.6%，质控失败。不排除是由于嵌合体造成胎盘、胎儿基因组构成不一致所致。

样本3005529：两次NIPT2.0结果均为低风险，NIPT Plus验证结果亦为低风险，可能是胎盘、胎儿基因组构成不一致所致。

#### 7.4.2 染色体微缺失

NIPT2.0与介入性产前诊断（羊水穿刺后进行CNV-seq检测）和/或随访结果对比，有2例染色体微缺失假阳性结果。其中1例检测结果与临床常规无创产前筛查（NIPT）结果一致，不排除由于限制性胎盘嵌合（即胎儿正常，胎盘发生相应染色体微缺失变异）造成。

表16 染色体微缺失 2 例假阳性结果分析

序号	年龄	孕周	临床症状	NIPT2.0检测结果	对比方法	随访检测结果
1	33岁	13周1天	无创产前筛查：阴性；NT: 2.7-3.2mm	22q11.2 del	CNV-seq	阴性
2	39岁	17周4天	无创产前筛查高风险：22q11.2缺失综合征和2q33缺失综合征高风险	2q33&22q11.2del	CNV-seq	阴性

#### 7.4.3 显性单基因病

NIPT2.0与介入性产前诊断（羊水穿刺后进行WES检测或一代测序）和随访结果对比，有5例显性单基因病假阳性结果。对同一采血管的母亲白细胞，提取DNA后进行相同的检测验证；其中4例存在孕妇本人白细胞低比例嵌合，可能由于该原因造成。

表17 显性单基因病 5 例假阳性结果分析

年龄	孕周	临床症状	变异比例 (%)	胎儿百分数 (%)	检测结果	疾病名称	随访结果	对照方法	白细胞变异比例 (%)
30岁	19周1天	-	2.9	6.8	NF1:c.2033dup, p.Ile679Aspfs*21	神经纤维瘤1型	阴性	WES	3.3
36岁	12周6天	无创产前筛查：21三体高风险	4.2	8.4	NF1:c.7127-1G>A (T21)	神经纤维瘤1型	阴性	一代测序	6
33岁	17周3天	-	1.5	3.8	HDAC8:c.978_979dup, p.Leu327Hisfs*48	Cornelia de Lange综合征5型	阴性	一代测序	0.3
36岁	16周	-	1.6	11.0	KMT2D:c.8059C>T, p.Arg2687Ter	Kabuki综合征1型	阴性	一代测序	2
28岁	20周	性染色体复杂异常	6.0	12.2	CDKL5:c.2185G>T, p.Glu729Ter	早期婴儿型癫痫性脑病2型	阴性	一代测序	0

## 8 阶段性研究结果讨论

21 三体、18 三体、13 三体：各自的临床灵敏度/检出率均为100%，复合假阳性率为0.14%，复合阳性预测值为90.28%，检测失败率为4.66%，符合《孕妇外周血胎儿游离DNA产前筛查与诊断技术规范》（国卫办妇幼发〔2016〕45号）的各项要求。

**整体综合分析：**全部目标疾病的复合临床灵敏度/复合检出率为98.45%，复合临床特异度为99.58%，复合假阳性率为0.42%，复合准确度为99.56%，复合阳性预测值为85.81%，复合阴性预测值为99.96%，Kappa值为0.9147，检测失败率为4.66%，临床性能良好，具备临床应用价值。

总体上达到了本临床研究的目的。