

团 体 标 准

T/ZGYCXH XXX—XXXX

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

Clinical application guideline for comprehensive noninvasive prenatal screening of
chromosomal aberrations and dominant monogenic disorders

(征求意见稿)

v20260428

XXXX - XX - XX 发布

XXXX - XX - XX 实施

中国遗传学会 发布

目 次

目 次	I
前 言	II
引 言	II
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
4 符号和缩略语	3
5 目标疾病	3
5.1 总体原则	3
5.2 染色体非整倍体	4
5.3 染色体微缺失综合征	4
5.4 显性单基因病	4
6 检测前知情告知和检测前咨询	6
6.1 临床适用范围	6
6.2 检测前咨询	6
6.3 检测申请单和知情同意书签署	7
7 单基因变异解读	8
8 质量控制	8
8.1 质量控制指标	8
8.2 全流程质量控制要求	9
8.3 检测数据及验证结果的统计及分析	9
8.4 假阳性和假阴性结果分析	9
8.5 对检测失败标本的数据分析及随访结果汇总	10
9 筛查报告常规内容	11
9.1 检测方法	11
9.2 筛查的目标疾病明细清单	11
9.3 方法局限性和残余风险	11
9.4 遗传咨询意见	11
10 意外发现	12
11 检测后遗传咨询及随访	12
11.1 筛查低风险报告的遗传咨询	12
11.2 筛查高风险报告的遗传咨询	12
11.3 报告发放后的随访	13
12 标本、资料信息与数据的保存	13

前 言

本文件按照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。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由中国遗传学会提出并归口。

本文件起草单位：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……。

本文件主要起草人：……。

参与修改人：……。

本标准首次制定，将根据国内外行业最新发展陆续完善修订。

引 言

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（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。

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

1 范围

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）技术在临床应用中，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时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，适用于具备产前诊断资质且具有开展传统NIPT经验的医院、与产前诊断机构签署合作协议的具资质的检测服务提供商。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

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

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

染色体异常 chromosomal aberrations

指染色体的数目或结构上发生的病理改变。此类病理改变会导致遗传物质失衡，破坏基因表达，是自然流产、先天畸形、智力障碍及不孕不育的主要遗传病因。染色体数目异常可分为整倍体异常和非整倍体异常；染色体结构异常可分为显微水平的缺失、重复、易位、倒位和插入等。

3.2

显性单基因病 dominant monogenic disorders

指由单个基因突变引起，且在杂合状态下即可发病的遗传病。此类疾病依据致病基因所在的染色体位置，主要分为两类：一是常染色体显性遗传病，致病基因位于常染色体上，男女患病机会均等；二是X连锁显性遗传病，致病基因位于X染色体上，通常女性患者多于男性，但男性症状往往更重。致病基因可以是生殖细胞或受精卵自发产生的新发变异，也可以是由双亲任何一方遗传而来。

3.3

新发变异 de novo variants, DNVs

指子代基因组中存在的不同于父母基因组的胚系变异。它的来源主要有以下三种：(1)在父母双方的胚胎发育期间，从原肠胚形成原始生殖细胞时发生的变异；(2)父母生殖细胞在减数分裂过程中发生的变异；(3)后代早期胚胎发育的合子后变异。

3.4

胎儿游离DNA cell free fetal DNA,cffDNA

在孕期母体外周血中存在来自胎儿胎盘的游离DNA。胎儿游离DNA主要来自于胎盘滋养层细胞程序性死亡后释放的短DNA片段或胎盘微粒进入母体血液循环时胎儿DNA的断裂片段，通常片段小于200bp，其在母体血浆中的浓度可随着孕周变化。

3.5

染色体非整倍体 chromosomal aneuploidy

染色体数目在二倍体（ $2n = 46$ ）的基础上增加或减少一条或几条的改变，称为染色体非整倍体。

3.6

微缺失微重复综合征 microdeletion microduplication syndrome, MMS

染色体上DNA片段发生亚显微水平的缺失或重复引起的遗传性疾病，可导致各种发育、智力和体格异常，具体取决于涉及的特定基因和受影响区域的大小。

3.7

拷贝数变异 copy number variation, CNV

指个体基因组中特定 DNA 序列拷贝数的变化，一般指长度为1 Kb 以上 DNA 片段的插入、缺失和重复。拷贝数变异可能与特定特征或疾病有关。

3.8

纯合性区域 region of homozygosity, ROH

指基因组中连续且纯合的 DNA 片段，即个体在该区域的两个等位基因完全相同(如 AA 或 BB)，具较长的纯合片段的个体隐性遗传疾病的风险增加。

3.9

杂合性缺失 loss of heterozygosity, LOH

指位于同源染色体上的相同基因座位的DNA片段序列完全相同或其中一个DNA片段缺失，丧失了正常二倍体生物的杂合性。

3.10

单亲二体 uniparental disomy, UPD

指个体的同源染色体或染色体片段均来自于双亲中一方，特定的UPD能够造成基因印记障碍或基因纯合变异，从而导致各类疾病。

3.11

无创产前筛查 noninvasive prenatal test, NIPT

指应用高通量测序等分子遗传技术检测孕期母体血浆中胎儿游离DNA片段，评估胎儿常见染色体非整倍体等遗传病风险，以便进一步明确诊断。

3.12

高通量测序 high-throughput sequencing

以一次并行几十万到几百万条DNA分子序列测定和一般读长较短等为标志，通过生物信息处理与标准参考基因组序列比对等，测定核苷酸序列，得到序列变异、拷贝数变异等信息的过程。

3.13

产前诊断 prenatal diagnosis

通过遗传咨询、医学影像、细胞遗传和分子遗传等技术对胎儿进行先天性缺陷和遗传性疾病的诊断，以便提供相应的医疗建议和干预措施。

3.14

遗传咨询 genetic counseling

遗传咨询是对遗传病的发生风险或者再发风险进行的咨询，是咨询医师和咨询者就其家庭中成员、孕前或产前面临的遗传病病因、遗传方式、诊断、治疗、预防、复发风险等所面临的问题进行讨论和商谈，以促进对疾病与风险/再发风险的接受与积极应对。

3.15

测序深度 sequencing depth

测序得到的碱基总量（bp）与基因组大小的比值，是评价测序量的指标之一。测序深度与基因组覆盖度之间是正相关的关系，测序带来的错误率或假阳性结果，会随着测序深度的提升而下降。

3.16

目标区域覆盖度 target region coverage

指测序得到的目标区域的总碱基数与目标区域长度的比值，最理想的情况就是感兴趣的目标区域都能够被覆盖到。

4 符号和缩略语

下列缩略语适用于本文件。

ACMG: 美国医学遗传学和基因组学学会 (American College of Medical Genetics and Genomics)

B: 良性的 (benign), 本文指良性变异

BMI: 体重指数 (body mass index)

bp: 碱基对 (base pair)

cfDNA: 游离DNA (cell free DNA)

cffDNA: 胎儿游离DNA (cell free fetal DNA)

Chr: 染色体 (chromosome)

CNV: 拷贝数变异 (copy number variation)

DECIPHER: 基于 Ensembl 资源的人类基因组变异和表型数据库 (Database of genomic variation and Phenotype in Humans using Ensembl Resources)

DNA: 脱氧核糖核酸 (deoxyribonucleic acid)

DNB: DNA纳米球 (DNA nanoball)

GRCh38: 人类基因组参考序列版本38 (Genome Reference Consortium human build 38)

IVF-ET: 体外受精-胚胎移植 (in vitro fertilization and embryo transfer)

Kb: 千个碱基, DNA或DNA片段的长度单位 (kilobase)

LB: 可能良性的 (likely benign), 本文指可能良性的变异

LOH: 杂合性缺失 (loss of heterozygosity)

LP: 可能致病的 (likely pathogenic), 本文指可能致病的变异

Mb: 百万个碱基, DNA或DNA片段的长度单位 (megabase)

NGS: 下一代测序技术 (next-generation sequencing)

NPV: 阴性预测值 (negative predictive value)

P: 致病的 (pathogenic), 本文指致病的变异

PE: 双端测序 (paired-end)

PPV: 阳性预测值 (positive predictive value)

ROH: 纯合性区域 (region of homozygosity)

SNP: 单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism)

SOP: 标准操作程序 (standard operation procedure)

VUS: (临床) 意义不明确的变异 (variant of uncertain significance)

5 目标疾病

5.1 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。

5.2 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见表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”。

表1 可检测的染色体非整倍体

序号	疾病名称/异常情况	区域
1	21 三体综合征	Chr21
2	18 三体综合征	Chr18
3	13 三体综合征	Chr13
4	15 三体综合征	Chr15
5	16 三体综合征	Chr16
6	22 三体综合征	Chr22
7	特纳综合征（45,X 综合征）	ChrX,Y
8	47,XXX 核型	ChrX,Y
9	克氏综合征（47,XXY 综合征）	ChrX,Y
10	47,XYY 核型	ChrX,Y

5.3 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。表2所列举的12种常见微缺失综合征相对发病率高、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ROH，除非具有明确临床意义，宜不予报告。

表2 宜纳入目标疾病并常规报告的常见染色体微缺失综合征

序号	疾病名称	染色体区	关键区域（GRCh38）
1	DiGeorge 综合征	22q11.2	Chr22:18924718-21111383（GeneReviews）
2	1p36 缺失综合征	1p36	Chr1:10001-12780116（DECIPHER）
3	Wolf-Hirschhorn 综合征	4p16	Chr4:1567470-2108509（DECIPHER）
4	Cri du Chat 综合征	5p15	Chr5:10001-12533192（DECIPHER）
5	9p 缺失综合征	9p	/
6	Jacobsen 综合征	11q23q25	/
7/8	Angelman 综合征/ Prader-Willi 综合征（15q11.2 微缺失）	15q11.2-q13	Chr15:22677345-28193120（DECIPHER）& Chr15:23374765-28193120（DECIPHER）
9	18p 缺失综合征	18p	/
10	18q 缺失综合征	18q22q23	/
11	Smith-Magenis 综合征	17p11.2	Chr17:16869758-20318836（DECIPHER）
12	Williams-Beuren 综合征	7q11.23	Chr7:73330452-74728172（GeneReviews）

5.4 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，表3所列举的基因及其导致的显性单基因病相对较为重要，宜纳入目标疾病并常规报告。

表3 宜纳入目标疾病并常规报告的显性单基因病

类别	序号	疾病名称	基因
骨骼与结缔组织系统疾病	1	软骨发育不全	<i>FGFR3</i>
	2	致死性骨发育不良	<i>FGFR3</i>
	3	成骨不全	<i>COL1A1</i> 、 <i>COL1A2</i>
	4	X连锁显性点状软骨发育不良	<i>EBP</i>
	5	软骨成长不全II型或软骨发育不良	<i>COL2A1</i>
	6	Stickler 综合征1型	<i>COL2A1</i>
RAS-MAPK 信号通路疾病	7	努南综合征1型	<i>PTPN11</i>
	8	努南综合征3型	<i>KRAS</i>
	9	努南综合征4型	<i>SOS1</i>
	10	努南综合征5型	<i>RAF1</i>
	11	努南综合征6型	<i>NRAS</i>
	12	努南综合征7型	<i>BRAF</i>
	13	努南综合征8型	<i>RIT1</i>
	14	努南综合征9型	<i>SOS2</i>
	15	努南样综合征	<i>CBL</i>
	16	努南样综合征伴毛发松动1型	<i>SHOC2</i>
	17	Costello 综合征	<i>HRAS</i>
神经发育障碍	18	Rett 综合征	<i>MECP2</i>
染色体重塑障碍/表观遗传调控障碍（多系统发育异常/智力障碍综合征）	19	Cornelia de Lange 综合征1型	<i>NIPBL</i>
	20	Cornelia de Lange 综合征2型	<i>SMC1A</i>
	21	Cornelia de Lange 综合征3型	<i>SMC3</i>
	22	Cornelia de Lange 综合征4型	<i>RAD21</i>
	23	Cornelia de Lange 综合征5型	<i>HDAC8</i>
	24	Kabuki 综合征1型	<i>KMT2D</i>
	25	Sotos 综合征	<i>NSD1</i>
颅缝早闭/颅面骨骼发育障碍综合征	26	Saethre-Chotzen 综合征	<i>FGFR2</i>
	27	Crouzon 综合征	<i>FGFR2</i>
	28	Apert 综合征	<i>FGFR2</i>
	29	Pfeiffer 综合征	<i>FGFR2</i>
	30	无生殖器异常或类固醇生成障碍性 Antley-Bixler 综合征	<i>FGFR2</i>
	31	Beare-Stevenson 皮肤旋纹综合征	<i>FGFR2</i>
	32	曲骨发育不全	<i>FGFR2</i>
	33	Jackson-Weiss 综合征	<i>FGFR2</i>
	34	眼泪管-耳-齿-指（趾）综合征（Lacrimo-Auriculo-Dento-Digital syndrome）	<i>FGFR2</i>
以下疾病可能成年期发病 ^a ，或可能存在外显率/异质性问题 ^b ，应审慎选择。			
骨骼与结缔组织系统疾病	35	马凡综合征 ^a	<i>FBN1</i>

类别	序号	疾病名称	基因
神经皮肤综合征	36	神经纤维瘤 1 型 ^a	<i>NF1</i>
	37	神经纤维瘤 2 型 ^a	<i>NF2</i>
	38	结节性硬化 1 型 ^b	<i>TSC1</i>
	39	结节性硬化 2 型 ^b	<i>TSC2</i>

6 检测前知情告知和检测前咨询

6.1 临床适用范围

6.1.1 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⁺⁰~22⁺⁶周。对于孕周>22⁺⁶周者且孕妇自愿进行筛查并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。

6.1.2 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) 双卵双胞胎妊娠；
- b) 重度肥胖（BMI>40）；
- c) 既往有遗传性疾病胎儿孕育史，但夫妇双方均无明确的染色体异常或基因变异者；
- d) 对于有孕妇高龄（预产年龄≥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) IVF-ET 捐赠供卵或其他亲缘关系不符的孕妇；
- f) 孕周≤8⁺⁶周时，因胚胎停育情况，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。

6.1.3 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，或按有关规定应进行产前诊断，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，应推荐其进行产前诊断；
- 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) 1年内接受过异体输血、移植手术、异体细胞治疗等；
- 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，因胎儿停育情况，多胎、双胎减胎后（自然或者人工）为单胎者；
- i) 医师认为明显影响结果准确性的其他情形。

6.2 检测前咨询

6.2.1 检测前咨询的总体要求

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。

6.2.2 检测前咨询要点

6.2.2.1 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。

6.2.2.2 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。

6.2.2.3 应告知以下局限性，包括可能影响检测结果的因素。

- a) **是筛查而不是诊断：**NIPT2.0 是一种筛查手段，不能代替产前诊断，也不能代替现有的胎儿系统超声检查和其他必要的产前检查。对于检测结果提示高风险者，应提供产前诊断。对于检测未发现明显异常者，应结合孕期的其他检查如超声等，综合考虑是否需要进一步的产前诊断。
- b) **检测准确性的局限性：**鉴于当前检测技术的限制、孕妇的个体差异（如限制性胎盘嵌合、胎儿嵌合、母源低比例嵌合变异、孕妇近期曾接受输血或移植手术、孕妇本身为遗传病或恶性肿瘤患者或遗传变异携带者和胎儿百分数 $<3.0\%$ ）等原因，NIPT2.0 有可能产生假阳性或假阴性的结果。
- c) **检测范围的局限：**NIPT2.0 仅针对目标疾病内的标准型胎儿基因变异及染色体异常，不排除存在目标疾病之外其他染色体或基因序列异常的可能性。无法准确检测由以下因素所造成的异常：染色体嵌合型；染色体多倍体（三倍体、四倍体等）；染色体平衡易位、倒位、环状染色体；单亲二体等其他复杂遗传疾病。NIPT2.0 对单基因位点的检测仅适用于发现点突变及不超过 3 个碱基对的片段插入和/或缺失变异，而不包括非目标区域的其他点突变、超过 3 个碱基对的片段插入和/或缺失变异，也不包括全基因或基因片段的 CNV、动态变异、基因组结构变异及复杂重组等特殊类型变异的检测。
- d) **检测技术的局限：**由于高通量测序技术的限制，基因组中的高度重复区域、富含 GC 的区域、高度复杂的区域或假基因干扰的区域存在漏检或假阳性的可能。
- e) **科学发展水平的局限：**在知情同意书中应告知，检测报告仅对报告时的变异评级和届时版本的筛查目标疾病和位点负责。在报告出具之后，相关文献的更新和修改可能影响对受检者基因组数据的结果解读。对有较高概率导致严重后果且发病时间早、但基因型与表型对应关系存在一定的不确定性的疾病（如疾病表型不完全外显或严重程度有较强异质性），须在患者对检测局限性充分知情同意的前提下进行。
- f) **其他局限：**对成年期发病的疾病进行筛查可能涉及个人的选择权，例如是否愿意了解本人的遗传风险。这将带来额外的心理压力和焦虑，还可能导致不必要的终止妊娠。此外，若出现不可抗拒因素导致样品损耗或其他特殊情形（如因个体差异血浆中游离 DNA 胎儿百分数 $<3.0\%$ 导致检测失败），需要重新采集血样。

6.2.2.4 应告知可能的意外发现。

6.2.2.5 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。

6.2.2.6 应告知孕妇，可供选择的其它检查。

6.2.2.7 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。

6.3 检测申请单和知情同意书签署

6.3.1 检测申请单

检测申请单应涵盖但不限于以下内容：

- a) **基本信息：**医院信息/医院条码、受检者姓名、年龄、身高、体重、唯一识别号、联系电话、送检医师信息、申请日期、样本采集日期、临床初步诊断（如有）等；
- b) **妊娠信息：**末次月经、孕周、妊娠方式等；
- c) **病史信息：**孕产史、既往史、不良孕产史、家族史等；
- d) **辅助检查结果：**胎儿数、双胎需明确绒毛膜性质、血清学筛查结果及夫妻双方染色体结果等；
- e) 送检医师及孕妇签字。

6.3.2 知情同意书

知情同意书应至少涵盖以下内容：

- a) 告知本技术的检测方法和检测目的；
 - b) 告知本技术的检测目标疾病、适用、慎用和不适用人群；
 - c) 告知本技术可能出现假阳性和假阴性结果；
 - d) 告知本技术有因检测失败重新采血的可能；
 - e) 告知本技术的性质是一种筛查方法，强调本技术检测结果不是产前诊断结果，高风险结果必须进行介入性产前诊断以确诊；
 - f) 若发现目标疾病以外的疾病（“意外发现”），孕妇自愿选择是否同意“接收意外发现结果告知及产前诊断建议”及是否同意“出具意外发现报告”；
 - g) 若发现表型异质性或不完全外显相关变异，孕妇自愿选择是否同意接收该检测结果；
 - h) 孕妇签字。
- 此外，宜在知情同意书中加入对产后随访的授权声明。

7 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：

- a) NIPT2.0 数据库报告且确认过的评级为 P 或 LP 的变异，应报告；
- b) 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 VUS、LB 及 B 的变异；
- c) 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；
- d) 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；
- e) 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 个月再次发现，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。

8 质量控制

8.1 质量控制指标

8.1.1 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%。

8.1.2 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%。

8.1.3 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%。

8.1.4 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率不超过 5%。（参照国卫办妇幼发〔2016〕45 号。）

8.2 全流程质量控制要求

8.2.1 检测前质量控制

- a) 应制定送样手册，提供详尽的受检者标准，指导医务工作人员按要求采集合格的原始样本，规范样本采集全过程。手册内容包括：适用人群、慎用人群以及不适用人群。样本采集要求，包括被采血者准备、识别、采集方法、采样耗材、采血人员、样本采集后处理、样本运输方式、生物安全防护措施以及样本收录标准等。
- b) **样本采集**：应保证样本信息准确性和样本保存完整性。样本采集要求应包括采集方法、样本采集后处理、样本运输方式、生物安全防护措施等，规范样本采集全过程。
- c) **样本运输**：应根据样本运输要求，采用规定的外包装样式，使得样本运输达到规定标准，处于受控状态，并符合相关法规及生物安全要求。
- d) **样本接收**：样本到达实验室后交接时，应检查样本数量、核查样本状态，并将每个样本信息录入到信息系统。发现样本质量问题（样本标识不清；采血管的使用不正确；采血量不足；严重溶血或有血凝块；采血管破裂及开盖；样本未按照规定保存及运输；受检信息不完善或受检者不符合检测要求等）应立即反馈。每个样本在实验室流转中，应采用唯一的条形码进行识别和区分，最大限度避免样本的混淆和保护客户或患者的个人信息。

8.2.2 检测中质量控制

检测机构的分子遗传实验室应具备临床基因扩增实验室资质。具体要求按照《医疗机构临床实验室管理办法》和《医疗机构临床基因扩增检验实验室管理办法》等相关规定。

实验室应建立SOP文件体系，以确保检测各个环节按标准有序进行，以确保结果的真实性、准确性和可重复性。在实验过程中，应严格执行SOP文件，不得擅自修改。

开展NIPT2.0的实验室应定期参加室间质量评价活动。相关主管部门暂未开设本项目的室间质量评价时，应开展实验室室间能力验证。应保存评价/验证记录。不合格的应分析原因，并采取相应的质量改进措施。

8.2.3 检测后质量控制

实验室应建立完善的复检流程，对检测质量不合格的标本应进行复检确认。对复检仍不符合数据分析或结果判断质量要求的标本，应进行充分沟通后确定后续处理。

所有实验结果数据的分析均采用双人复核，然后由专人负责审核出报告（报告需由副高以上职称并具备产前诊断资质的临床医师签名发放），采用“双人复核+专人审核”的机制，确保每个检测结果的正确性。应保证提供报告结果100%与检测结果一致，就诊者信息100%与临床信息一致，所有的报告在信息系统或者原始记录中均可查询溯源。剩余标本和数据的保存等应按相关规定执行。

8.3 检测数据及验证结果的统计及分析

应至少以年度为单位（宜以季度为单位），对NIPT2.0筛查检测数据及随访结果进行统计和分析。

应统计期间的检测标本例数、随访例数、报告时效性，以及目标疾病的阳性检出例数、确诊例数等。宜按照检测指征分类统计。

应结合随访结果，以四格表形式统计目标疾病的（复合）检出率/敏感性、（复合）假阳性率、（复合）阳性预测值、检测失败率等指标。应对各数据值进行总结分析。

8.4 假阳性和假阴性结果分析

NIPT2.0检测出现假阳性和假阴性结果的，宜按以下措施予以分析和改进；对假阴性个案应设立质量复审机制并形成闭环改进。

8.4.1 复核与确认

应对筛查结果进行复核，确认是否存在误差或遗漏，包括检查样本处理、实验操作和数据分析等各个环节。

8.4.1.1 排查由不适用人群造成的可能性

应复核检测申请单，排查是否存在由孕妇个体差异原因（孕妇本身为遗传病或恶性肿瘤患者或遗传变异携带者等），或不适用人群原因（因胚胎/胎儿停育情况，多胎、双胞胎自然或人工减胎为单胎者；过

去一年内曾接受免疫治疗或异体输血、移植手术、异体细胞治疗、干细胞治疗等)造成假阳性或假阴性结果的可能性。

8.4.1.2 排查由人为错误造成的可能性

- a) 应溯源复核标本的检测申请单、原始采血管、分装的血浆管、文库等标本信息,排查标本错误的可能性。
- b) 应复核数据有效测序深度、样本类型、文库杂交捕获均一性、母源 CNV、目标区域覆盖度等质控指标,排查结果错误的可能性。
- c) 必要时,可对留存血浆标本再次验证,将验证结果与原检测结果比对,排查标本错误的可能性。

8.4.1.3 排查由筛查局限性造成的可能性

- a) 应复核检测结果及质控结果,确认或排除是否由胎儿百分数 $<3.0\%$ (孕妇个体差异原因)造成假阳性或假阴性结果。
- b) 应考察分析过程数据,确认或排除是否由基因组中的高度重复区域、富含 GC 的区域、高度复杂的区域或假基因干扰的区域造成假阳性或假阴性结果(高通量测序技术的局限性)。

8.4.2 进一步诊断

- a) 必要时,宜建议孕妇和家属进行其他类型的产前诊断/出生后诊断来确认胎儿/新生儿的健康状况。
- b) 条件允许时(如可获得胎盘、脐带血、羊水细胞、孕妇本人/配偶外周血等辅助样本),宜对辅助样本进行检测,确认或排除是否由孕妇个体差异[如限制性胎盘嵌合、胎儿嵌合、孕妇本人/配偶为遗传病患者或遗传变异携带者(母源 CNV、母源低比例嵌合变异等)、孕妇本人为恶性肿瘤患者等]原因造成假阳性或假阴性结果。

8.4.3 后续措施

- a) 应进行详细原因分析并撰写分析报告。
- b) 应对病例进行追踪随访。
- c) 应总结经验,优化后续管理流程质量。

8.5 对检测失败标本的数据分析及随访结果汇总

8.5.1 检测失败原因分析

筛查检测失败是指由于凝血、溶血、DNA 质量控制不合格等标本原因而造成的检测失败。失败率应控制在5%以内。

应分析检测失败原因,包括但不限于以下方面:

- a) 凝血;
- b) 溶血;
- c) 血液污染;
- d) 标本量不能达到实验要求(外周血量不应少于 10 ml);
- e) 提取后核酸浓度及目标条带不符合要求;
- f) 胎儿百分数 $<3.0\%$;
- g) 有效测序深度不符合要求;
- h) 样本类型(双卵双胞胎/多胎或 IVF-ET 捐赠供卵或其他亲缘关系不符的情况);
- i) 母源变异;
- j) 目标区域覆盖度不符合要求;
- k) 孕妇个体差异(如限制性胎盘嵌合、胎儿嵌合、孕妇近期曾接受输血或移植手术、孕妇本身为遗传病或恶性肿瘤患者或遗传变异携带者、胎儿百分数 $<3.0\%$);
- l) 其他可能导致检测失败的原因分析。

8.5.2 数据统计及后续措施

应统计检测失败标本数,并记录失败原因。宜按照检测指征分类统计。应总结经验,优化后续管理流程质量。

8.5.3 随访

应对检测失败孕妇的随访，包括但不限于以下方面：

- a) 检测失败后孕妇进行产前诊断的比率；
- b) 产前诊断的方法，产前诊断结果；
- c) 产前诊断异常率；
- d) 妊娠结局；
- e) 失访或拒访、拒绝产前诊断原因。

9 筛查报告常规内容

9.1 检测方法

报告中应明确检测方法。

9.2 筛查的目标疾病明细清单

报告中应明确列出筛查目标疾病病种清单，筛查疾病的临床意义。

9.3 方法局限性和残余风险

报告中应明确以下方法局限性和残余风险。

- a) 检测结果仅为筛查目的，不应作为任何产前诊断、治疗、管理的唯一决策依据。
- b) 本筛查只针对检测范围内目标疾病的标准变异，检测范围之外的区域不排除有其他染色体或基因序列异常的可能性。
- c) 本筛查方法的单基因检测部分仅适用于发现目标区域的单个碱基突变及不超过 3 个碱基对的片段插入和/或缺失变异，不包括非目标区域的其它点变异、超过 3 个碱基对的小片段插入和/或缺失变异，也不包括 CNV（如 *NFI*, *TSC1*, *TSC2* 等全基因或基因片段的 CNV）、动态变异、基因组结构变异及复杂重组等特殊类型变异的检测。本检测仅报告检测范围内基因的编码外显子及上下游 10bp 内含子区域内，评级为 P 或 LP，且会造成严重后果（致死性或严重的致残、致畸疾病）的变异。由于高通量测序技术的限制，本检测无法完全覆盖基因组中受高度重复区域、富含 GC 区域、高复杂度区域或假基因干扰的区域。本检测仅报告评级为 P 或 LP 的变异，不报告评级为 VUS、LB 及 B 的变异。在报告出具之后，相关科学文献的更新和修改均可能影响对本检测中受检者基因组数据的结果解读。对于检测范围内疾病表型较为轻微（非致死性或严重的致残、致畸疾病）、发病时间较晚（出生后 1 年以后）或者文献对变异的致病性、症状严重程度、发病时间存在证据不足、不一致的情况，本检测有可能出现假阳性或假阴性的结果。
- d) 可能严重影响本检测结果准确性情形，包括：孕周 $<12^{+0}$ 周；夫妇一方有或疑似有染色体异常；一年内接受过异体输血、移植手术、异体细胞治疗等；有单基因病家族史或提示胎儿罹患单基因病高风险需产前诊断；孕期合并恶性肿瘤；多胎妊娠；医师认为明显影响结果准确性的其它情形。
- e) 存在孕妇重度肥胖（BMI >40 ）、通过 IVF-ET 方式受孕、双胎妊娠等情形时，检测效果可能有一定程度下降。
- f) 鉴于当前医学检测技术水平的限制和孕妇个体差异（胎盘限制性嵌合、孕妇自身为染色体异常患者）等原因，本检测有可能出现假阳性或假阴性的结果。
- g) 本检测无法检测到由以下因素所引起的异常：染色体嵌合型；染色体多倍体（三倍体、四倍体等）；染色体平衡易位、倒位、环状；单亲二体等其它复杂遗传疾病。

9.4 遗传咨询意见

- a) 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。
- b) 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。

10 意外发现

- a) 发现除外目标疾病的其他遗传疾病高风险，应根据知情同意书中关于“意外发现”的孕妇知情同意选择情况，确定是否告知意外发现并建议产前诊断，确定是否出具意外发现报告，特殊情况可能需要结合孕妇及配偶外周血染色体/基因检测综合判断结果。
- b) 如果经产前诊断明确为假阳性结果，鉴于可能存在限制性胎盘嵌合，应建议孕妇定期超声监测胎儿生长发育。
- c) 对除外 21、18、13 三体外的其他常染色体三体高风险，由于此类三体大多属于不可存活三体（nonviable trisomy），多在孕早期（12 周前）发生自发性流产，因此宜对孕周、胎儿游离 DNA 浓度、风险值、是否有超声异常及进行羊水荧光原位杂交实验等进行综合评估和检查，以排除胎儿潜在的染色体三体嵌合风险。
- d) 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”，宜建议并促使孕妇进一步产前诊断。
- e) 对于检测到的目标疾病之外胎儿其他评级为 P 或 LP 的微重复综合征，宜作为意外发现报告，宜建议并促使孕妇进一步产前诊断。
- f) 对于检测发现母源 CNV、LOH 或母亲为显性单基因病携带者，应告知意外发现，应就是否报告征求受检者的意见，宜建议并促使孕妇进一步产前诊断。

11 检测后遗传咨询及随访

11.1 筛查低风险报告的遗传咨询

- a) 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。
- b) 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。
- c) 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。
- d) 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。
- e) 应强调 NIPT2.0 存在局限性（参见 6.2.2.3），假阴性结果不能完全避免。

11.2 筛查高风险报告的遗传咨询

- a) 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。
- b) 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。
- c) 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。
- d) 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。

- e) 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。
- f) 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。
- g) 应强调 NIPT2.0 存在局限性（见 6.2.2.3），假阳性结果不能完全避免。

11.3 报告发放后的随访

11.3.1 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。

11.3.2 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）随访询问产前诊断结果。

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。

11.3.3 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。

12 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。