

ICS 11.100.  
C 63

# SZDB/Z

## 深圳市标准化指导性技术文件

SZDB/Z 53-2012

---

# 孕妇外周血基因检测胎儿“21-三体综合征” 标准

2012 -04 -05 发布

2012-05 -01 实施

深圳市市场监督管理局 发布

## 目 次

前言.....	II
引言.....	III
1 范围.....	1
2 术语和定义.....	1
3 缩略语.....	2
4 检测工作程序.....	2
4.1 检测对象.....	2
4.2 知情同意书的签署.....	2
4.3 孕妇资料和样本的采集.....	3
4.4 实验室工作程序.....	3
4.5 检测报告.....	4
4.6 孕妇资料和样本的保存.....	4
4.7 质量控制.....	5
4.8 高风险孕妇的处理.....	5
4.9 追踪随访.....	5
附 录 A（资料性附录） 孕妇外周血基因检测胎儿“21-三体综合征”知情同意书 ...	6
附 录 B（资料性附录） 孕妇外周血基因检测胎儿“21-三体综合征”送检单 .....	7
附 录 C（规范性附录） 孕妇外周血基因检测胎儿“21-三体综合征”结果评估 .....	9
附 录 D（资料性附录） 孕妇外周血基因检测胎儿“21-三体综合征”报告单 .....	10
参考文献.....	12

## 前 言

本标准按照 GB/T1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由深圳市卫生和人口计划生育委员会归口。

本标准负责起草单位：深圳华大基因研究院、深圳华大临床检验中心、深圳市标准技术研究院。

本标准主要起草人：王威、张秀清、李英睿、张红云、蒋馥蔓、翁思妹、裘晓东、张敖、陈欢。

本标准为首次发布。

## 引 言

本标准的发布机构提请注意，声明符合本标准时，可能涉及到 4.4.4、附录 C 与《一种细胞染色体分析方法》(201010252849.X) 相关专利的使用。

本标准的发布机构对于该专利的真实性、有效性和范围无任何立场。

该专利持有人已向本标准的发布机构保证，他愿意同任何申请人在合理且无歧视的条款和条件下，就专利授权许可进行谈判。该专利持有人的声明已在本标准的发布机构备案。相关信息可以通过以下联系方式获得：

专利持有人姓名：深圳华大基因科技有限公司；深圳华大基因研究院。

地址：广东省深圳市盐田区北山工业区综合楼。

请注意除上述专利外，本标准的某些内容仍可能涉及专利。本标准的发布机构不承担识别这些专利的责任。



# 孕妇外周血基因检测胎儿“21-三体综合征”标准

## 1 范围

本标准规定了孕妇外周血基因检测胎儿“21-三体综合征”的检测对象、知情同意书的签署、孕妇资料和样本的采集、实验室工作程序、检测报告、孕妇资料和样本的保存、质量控制、高风险孕妇的处理和追踪随访的要求。

本标准适用于符合孕妇外周血基因检测胎儿“21-三体综合征”要求的机构，通过抽取孕妇的外周血，检测血浆中的游离DNA，评估胎儿患“21-三体综合征”的风险。

## 2 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

### 2.1

#### 产前筛查

通过简便和较少创伤的检测方法，从孕妇群体中发现某些有先天性缺陷和遗传性疾病胎儿的高风险孕妇，以便进一步明确诊断。

### 2.2

#### 21-三体综合征

又称唐氏综合征，是常见的染色体疾病之一。活产新生儿发病率约为1/700。

### 2.3

#### 高通量测序

能一次并行对几十万到几百万条DNA分子进行序列测定的测序技术。

### 2.4

#### 碱基对

是形成核酸DNA、RNA单体以及编码遗传信息的化学结构。组成碱基对的碱基包括A、T、G、C、U。

### 2.5

#### 血浆游离DNA

指游离在血浆中的DNA片段，片段大小多为165-200 bp。在孕妇血浆中，包含有孕妇本人的游离DNA和胎儿的游离DNA两部分。

## 2.6

### 基因检测

指运用测序、荧光定量PCR、基因芯片、液态生物芯片和微流控技术等分子生物学手段，对血液、体液或细胞中的DNA进行检测，以期达到预测和诊断疾病的技术。

## 2.7

### GC 含量

是在所研究对象的DNA分子中，鸟嘌呤（Guanine）和胞嘧啶（Cytosine）所占的比例。

## 2.8

### 胎儿 DNA 含量

孕妇外周血中来源于胎儿的游离 DNA 数与总的游离 DNA 数的比值。

## 2.9

### 覆盖深度值

用来衡量来源于特定染色体的 DNA 量的值。如 21 号染色体上的覆盖深度值为样本定位到 21 号染色体的 DNA 分子数目与人类基因组上的 21 号染色体上的有效片段数的比值。

## 3 缩略语

下列缩略语适合于本标准。

bp: 碱基对 (base pair)

DNA: 脱氧核糖核酸 (Deoxyribonucleic Acid)

PCR: 聚合酶链反应 (Polymerase Chain Reaction)

Q-PCR: 定量聚合酶链反应 (Quantitative Polymerase Chain Reaction)

## 4 检测工作程序

### 4.1 检测对象

孕妇外周血基因检测胎儿“21-三体综合征”在孕 12 周~24 周进行。适用于单胎并自愿接受检测的孕妇。

### 4.2 知情同意书的签署

4.2.1 孕妇外周血基因检测胎儿“21-三体综合征”应遵循“知情同意、孕妇自愿”的原则。医务人员应事先告知孕妇或其家属该检测的性质。

4.2.2 知情同意书中明确孕妇外周血基因检测胎儿“21-三体综合征”的检出能力、技术局限性及潜在风险。

4.2.3 孕妇外周血基因检测胎儿“21-三体综合征”机构只对已签署知情同意书、同意接受孕妇外周血基因检测胎儿“21-三体综合征”的孕妇实施检测。孕妇外周血基因检测胎儿“21-三体综合征”知情同意书参见附录 A。

### 4.3 孕妇资料和样本的采集

#### 4.3.1 资料收集

4.3.1.1 孕妇基本资料：包括姓名、年龄、现孕周、月经周期、末次月经时间及其他信息。

4.3.1.2 孕妇产检情况：包括 B 超检查结果、唐筛结果及其他信息。

4.3.1.3 孕妇既往病史：包括妊娠及分娩史、既往史、现病史、过敏史、家庭遗传病史及其他病史。孕妇外周血基因检测胎儿“21-三体综合征”送检单参见附录 B。

#### 4.3.2 样本采集

4.3.2.1 严格按照无菌操作常规，用静脉穿刺术抽取孕妇外周血 5 mL 于 EDTA 抗凝管中。

4.3.2.2 在采血管上粘贴唯一编号标签，并注明孕妇姓名、年龄、孕周及其他信息。

4.3.2.3 孕妇及医护人员均需在送检单上签字。

#### 4.3.3 样本预处理

4.3.3.1 全血样本在抽取后应立即置于 2℃-8℃ 保存，并在抽取后 8 小时内离心分离血浆。

4.3.3.2 全血在 4℃ 条件下以 1,600 g 离心 10 分钟，将上清分装到 2.0mL 无菌离心管中。

4.3.3.3 初步分离后的血浆在 4℃ 条件下以 16,000 g 离心 10 分钟，以去除残余细胞。离心结束后将上清分装到 2.0mL 无菌离心管中。

4.3.3.4 在无菌离心管上粘贴标签，注明样本编号、血浆体积、分离日期，用封口膜密封，并立即置于-80℃ 条件下保存。

#### 4.3.4 样本保存和运输

4.3.4.1 全血样本在 2℃-8℃ 条件下运输。

4.3.4.2 血浆样本在-20℃ 条件下运输，-80℃ 条件下保存，禁止室温条件下放置。

注：血浆在-20℃ 条件下保存不超过 7 天，保存过程中避免反复冻融，如超过 7 天需保存在-80℃ 条件下。

### 4.4 实验室工作程序

#### 4.4.1 样本接收

4.4.1.1 样本接收时核对样本编号、送检单及知情同意书。

4.4.1.2 检查待检样本状态，对符合要求的样本，接收并登记；对不符合要求的样本，拒收、登记并通知重新采样。

#### 4.4.2 血浆中的游离 DNA 提取

4.4.2.1 使用 DNA 提取试剂盒，按照试剂盒说明书操作，提取血浆中的游离 DNA。

4.4.2.2 提取过程中，设置阴性对照和重复对照。

4.4.2.3 提取后的 DNA 置于-20℃ 条件下保存不超过 7 天，如超过 7 天需保存在-80℃ 条件下。



#### 4.4.3 文库制备与 DNA 测序

4.4.3.1 使用 T4 DNA 聚合酶、克列诺片段和 T4 多聚核苷酸激酶将 DNA 片段修复成平末端；通过 3' 端加碱基“A”使得 DNA 片段与 5' 端带有“T”碱基的特殊接头连接；聚合酶链反应扩增两端带有接头的 DNA 片段，并对 PCR 产物进行纯化。

4.4.3.2 使用生物分析系统检测文库的片段大小及产量，使用 Q-PCR 仪检测文库产量；根据 Q-PCR 结果，对样本进行等物质的量混合。

4.4.3.3 混合后的文库与光学透明玻璃芯片上的接头杂交，在仪器 cBot 的簇生成系统中通过桥式 PCR 成簇扩增。

4.4.3.4 DNA 扩增完毕，采用高通量测序仪进行 DNA 测序。

#### 4.4.4 数据分析

4.4.4.1 建立标准数据参考集：建立不少于 10,000 例样本的参考集，其中有核型分析结果对照的样本不少于 2,000 例。

4.4.4.2 通过比对软件将样本 DNA 分子测序数据比对到人类基因组序列上，统计来源于各条染色体上的 DNA 分子的覆盖深度值和 GC 含量值，给出检测结果。孕妇外周血基因检测胎儿“21-三体综合征”结果评估符合附录 C 的规定。

#### 4.4.5 实验室要求

4.4.5.1 孕妇外周血基因检测胎儿“21-三体综合征”实验室应符合临床基因扩增检验实验室的硬件要求，原则上分为四个单独的工作区域：试剂储存和准备区、样本制备区、扩增区、扩增产物分析区，进入各工作区域应严格遵循从试剂储存和准备区、样本制备区、扩增区至扩增产物分析区的单一方向顺序，避免交叉污染。

4.4.5.2 数据分析对硬件的要求应满足：数据分析有不低于 32G 的内存（12CPU）节点。

#### 4.5 检测报告

4.5.1 检测报告包含姓名、年龄、出生日期、孕周等基本信息。

4.5.2 检测报告包含下列内容：

- 胎儿 21-三体风险指数；
- 胎儿 21-三体风险；
- 检测结果的解释等。

4.5.3 检测报告注明检测结果的局限性。孕妇外周血基因检测胎儿“21-三体综合征”报告单参见附录 D。

4.5.4 检测报告的告知包含下列两种情况：

- 对低风险孕妇进行检测报告的发放；
- 对高风险孕妇，通知本人或家属获取检测报告的时间和地点。

#### 4.6 孕妇资料和样本的保存

4.6.1 孕妇外周血基因检测胎儿“21-三体综合征”资料包括申请单、知情同意书、实验数据记录，均保存 5 年以上，另有规定的除外。

4.6.2 孕妇外周血基因检测胎儿“21-三体综合征”的血浆样本在-80℃条件下保存，保存期限在2年以上。

#### 4.7 质量控制

4.7.1 采用唯一的编号进行样本识别和区分，避免样本的混淆。

4.7.2 相关人员应接受生物安全、检测技术等专业培训。

4.7.3 配备必要的基础设施和适宜的检测环境，对设施和环境进行监控。

4.7.4 设立阴性、重复对照，确保每次检测的质量。如阴性对照与预期结果不相符时，进行原因分析并采取纠正措施，形成书面记录。

#### 4.8 高风险孕妇的处理

对检测结果判定为高风险的孕妇，及时通知其进行遗传咨询，并建议到产前诊断机构做进一步的介入性产前诊断。

#### 4.9 追踪随访

4.9.1 强调对所有受检对象进行随访，随访率应 $\geq 90\%$ 。随访时限为产后1月~6月。

4.9.2 随访内容根据风险高低分为下列两种情况：

——针对低风险孕妇，随访至分娩后，记录孕妇妊娠结局及新生儿的发育情况；

——针对高风险孕妇，若孕妇同意进一步进行产前诊断，追踪诊断结果和妊娠结果；若孕妇不同意产前诊断，继续追踪随访至分娩后，了解孕期是否顺利及胎儿或新生儿是否正常。

4.9.3 如实登记随访结果，总结统计分析，评估检测效果。

附 录 A  
(资料性附录)

孕妇外周血基因检测胎儿“21-三体综合征”知情同意书

孕妇外周血基因检测胎儿“21-三体综合征”知情同意书见表A.1。

表 A.1 孕妇外周血基因检测胎儿“21-三体综合征”知情同意书

文件编号:	版 本:	序列号:	病(例)案号:
姓名:	年龄:	孕周:	样本编号:
<p><b>疾病和检测方法介绍:</b></p> <p>“21-三体综合征”又称唐氏综合征，是常见的染色体疾病之一，活产新生儿的发病率约为 1/700。由于人第 21 号染色体多了一条，患儿面容特殊，绝大多数为严重智力障碍，目前尚无有效的治疗方法。</p> <p>孕妇外周血基因检测胎儿“21-三体综合征”项目是从采集的孕妇外周血（5mL）中提取血浆中的游离 DNA，采用高通量测序及生物信息分析，得出胎儿患“21-三体综合征”的风险率。该检测宜在孕 12 周~24 周进行，对胎儿“21-三体综合征”的检测准确率≥99%。</p> <p><b>检测潜在风险:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 该方法不适用于检测：21-三体综合征中的嵌合体型、微缺失、微重复等结构性异常；21 号染色体以外的其他染色体异常；怀有多胞胎的孕妇；孕妇本人为 21-三体综合征患者。</li> <li>2. 鉴于当前医学检测技术水平的限制和孕妇个体差异等原因，即使在检测人员已经履行了工作职责和操作规程的前提下，检测结果仍可能出现假阳性或假阴性。</li> <li>3. 如果孕妇孕周推测不准或孕周过小，将影响检测结果的准确性。</li> <li>4. 如果孕妇接受过异体输血/血液制品、移植手术、干细胞治疗等而引入了外源性 DNA，将会影响检测结果。</li> <li>5. 本检测结果仅供参考，不作为最终诊断结果。若受检者不当地使用该结果而带来心理、生理负担，医院及检测机构不承担责任和风险。</li> <li>6. 受检者请提供完整、准确、详实的个人资料。因受检者提供的个人资料不实等因素而导致检测服务的中断、结果不准确等，本检测机构对此不承担责任。</li> </ol> <p><b>孕妇知情同意:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 医生已告知我该检测结果不作为最终诊断结果，检测结果为高风险者需进行产前诊断。</li> <li>2. 我已知晓该检测的性质、预期目的、风险和必要性，对其中的疑问已得到医生的解答。</li> <li>3. 医生已告知我将要进行的检测方法的相关内容，我并未得到该检测方法百分之百准确的许诺。</li> <li>4. 我承诺提供的个人资料真实可靠，并授权医院和检测机构对检测涉及的血液、血浆和医疗废弃物等进行处理。</li> <li>5. 我知晓当孕妇血浆中的胎儿 DNA 浓度过低时将影响检测结果，可能需重新抽血取样。</li> <li>6. 该结果仅作参考，需根据其他检查结果综合分析。</li> </ol> <p><b>(我已知晓上述内容，愿意进行该项检测并承担检测风险。)</b></p> <p>孕妇签名_____孕妇身份证号_____签名日期 ____年__月__日</p> <p>孕妇授权亲属签名_____与孕妇关系_____签名日期 ____年__月__日</p> <p><b>医生陈述</b></p> <p>我已告知孕妇（或其授权亲属）将要进行的检测方法 &amp; 检测后可能出现的风险，并解答了孕妇（或其授权亲属）关于此项检测的相关问题。</p> <p>医生签名_____ 签名日期 ____年__月__日</p>			

附 录 B  
(资料性附录)

孕妇外周血基因检测胎儿“21-三体综合征”送检单

表B.1 孕妇外周血基因检测胎儿“21-三体综合征”送检单

送检医院：\_\_\_\_\_ 送检科室：\_\_\_\_\_ 样本编号：\_\_\_\_\_

妊娠基本信息（以下资料由孕妇或医生填写）：

基本资料	姓名		年龄（岁）		现孕周	
	身高（cm）		体重（kg）		出生年月	
	出生地/籍贯		身份证号			
	国籍/民族		联系地址			
	家庭电话		手机号码			
	月经周期	/ 天	末次月经			
	产检医院			分娩医院		
	紧急联系人		手机号码		关系	
产检情况	B超检查结果	<input type="checkbox"/> 正常,单活胎 <input type="checkbox"/> 正常,非单胎 <input type="checkbox"/> 异常,单活胎      备注: _____				
	唐筛结果	<input type="checkbox"/> 未做 唐氏综合征风险率: <input type="checkbox"/> 高风险,比值_____ <input type="checkbox"/> 低风险 备注: _____				
	介入性产前诊断	<input type="checkbox"/> 已预约,拒绝介入性产前诊断 <input type="checkbox"/> 未预约原因: _____ <input type="checkbox"/> 已预约,准备介入性产前诊断,时间_____				
既往病史	妊娠及分娩史	妊娠__次 生育__次 流产(自然__次,人工__次,药物__次) <input type="checkbox"/> 早产__次 <input type="checkbox"/> 葡萄胎 <input type="checkbox"/> 宫外孕 <input type="checkbox"/> 新生儿死亡 <input type="checkbox"/> 先天畸形儿 <input type="checkbox"/> 胎停育 备注: _____				
	既往史	所患疾病_____ <input type="checkbox"/> 治愈 <input type="checkbox"/> 未治愈 输注血/血液制品史: <input type="checkbox"/> 有 <input type="checkbox"/> 无				
	现病史	目前患何种疾病_____ <input type="checkbox"/> 接受治疗 <input type="checkbox"/> 未接受治疗				
	过敏史	药物_____ 食物_____ 环境_____ 特殊情况_____				
	家族遗传病史					

孕妇签名：\_\_\_\_\_ 日期：\_\_\_\_\_ 年 月 日

送检医生签名：\_\_\_\_\_ 日期：\_\_\_\_\_ 年 月 日

抽血护士签名：\_\_\_\_\_ 日期：\_\_\_\_\_ 年 月 日 时 分

附 录 C  
(规范性附录)

孕妇外周血基因检测胎儿“21-三体综合征”结果评估

C.1 实验室检测结果的计算和转换

孕妇外周血基因检测胎儿“21-三体综合征”结果是将染色体对应的覆盖深度值转化为衡量风险的指数。须结合胎儿DNA浓度、GC含量值、正常样本覆盖深度分布、假设检验的基本原理等资料，使用专门的软件计算胎儿患“21-三体综合征”的风险。

具体而言，首先需统计21号染色体的覆盖深度值，计算方式为样本21号染色体上的有效片段总数除以参考序列上21号染色体上有效片段的总数；其次利用假设检验来构建统计量，来检测样本的覆盖深度值是否在正常范围值之内；然后通过结合GC含量、胎儿核酸分子浓度这些对覆盖深度值造成影响的因素以及人群正常分布的参数，将覆盖深度值转化为风险指数。

C.2 孕妇外周血基因检测胎儿“21-三体综合征”结果的表达方法

患“21-三体综合征”的检测结果通过综合分析和评估风险指数而得出。结果分为高风险和低风险。

C.3 结果的判别

- 当胎儿 GC 含量在正常参照样本覆盖范围内，胎儿“21-三体综合征”风险指数 $\geq 1/20$ 时，胎儿患“21-三体综合征”的风险为高风险；
- 当胎儿 GC 含量在正常参照样本覆盖范围内，胎儿“21-三体综合征”风险指数 $< 1/20$ 时，胎儿患“21-三体综合征”的风险为低风险。

C.4 “21-三体综合征”检出率要求

“21-三体综合征”检测准确率 $\geq 99\%$ ，假阳性率 $\leq 1\%$ 。

附 录 D  
(资料性附录)

孕妇外周血基因检测胎儿“21-三体综合征”报告单

孕妇外周血基因检测胎儿“21-三体综合征”报告单见表D.1。

表D.1 孕妇外周血基因检测胎儿“21-三体综合征”报告单

送检单位：\_\_\_\_\_ 送检科室：\_\_\_\_\_

送检时间：\_\_\_\_\_ 样本编号：\_\_\_\_\_

**样本信息**

姓名：\_\_\_\_\_ 出生日期：\_\_\_\_\_

年龄：\_\_\_\_\_ 岁 孕周：\_\_\_\_\_ 周

**检测结果**

胎儿 21-三体风险指数：\_\_\_\_\_

胎儿 21-三体风险：\_\_\_\_\_

注：1、截断值：1/20；

2、当胎儿 21-三体风险指数大于或等于 1/20 时，胎儿患 21-三体的风险为高风险；当胎儿 21-三体风险指数小于 1/20 时，胎儿患 21-三体的风险为低风险。

检测者：\_\_\_\_\_ 审核者：\_\_\_\_\_ 日期：\_\_\_\_\_

当检测胎儿患 21-三体的风险为高风险时，建议进行遗传咨询及介入性产前诊断；当检测胎儿患 21-三体的风险为低风险时，建议继续进行常规产前检查。

医生签名：\_\_\_\_\_ 日期：\_\_\_\_\_

**备注**

1. 本检测结果仅对送检的样本负责。
2. 鉴于当前医学检测技术水平的限制和孕妇个体差异等原因，即使在检测人员已经履行了工作职责和操作规程的前提下，检测结果仍可能出现假阳性或假阴性。
3. 该方法不适用于检测：21-三体综合征中的嵌合体型、微缺失、微重复等结构性异常；21号染色体以外的其他染色体异常；怀有多胞胎的孕妇；孕妇本人为 21-三体综合征患者。
4. 如果孕妇孕周推测不准或孕周过小，将影响检测结果的准确性；如果孕妇前期接受过异体输血/血液制品、移植手术、干细胞治疗等而引入了外源性 DNA，将会影响检测结果。
5. 本检测结果仅供参考，不作为最终诊断结果，相关解释请咨询临床医生。
6. 本检测机构对该检测结果保密并依法保护受检者的隐私；因受检者个人原因出现信息外泄，本机构不承担相应责任。

### 参 考 文 献

[1] WS 322.1-2010 胎儿常见染色体异常与开放性神经管缺陷的产前筛查与诊断技术标准 第1部分：中孕期母血清学产前筛查

[2] WS 322.2-2010 胎儿常见染色体异常与开放性神经管缺陷的产前筛查与诊断技术标准 第2部分：胎儿染色体异常的细胞遗传学产前诊断技术标准

---