

T/GXAS

团 体 标 准

T/GXAS 1092—2025

地中海贫血胚胎植入前遗传学检测规范

Specification for preimplantation genetic testing for thalassemia

2025 - 08 - 20 发布

2025 - 08 - 26 实施

广西标准化协会 发 布

目 次

前言 II

1 范围 1

2 规范性引用文件 1

3 术语和定义 1

4 缩略语 1

5 基本要求 1

6 适宜及禁忌人群 2

7 检测流程及要求 2

8 质量控制 4

9 实验室生物安全 4

附录 A（资料性） 地中海贫血相关胚胎植入前遗传学检测遗传咨询意见书..... 5

附录 B（资料性） 地中海贫血胚胎植入前遗传学检测知情同意书..... 6

附录 C（资料性） 地中海贫血胚胎植入前遗传学检测申请书..... 7

附录 D（资料性） 囊胚活检操作流程..... 8

附录 E（资料性） 遗传实验室检测..... 9

参考文献 11

前 言

本文件参照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。

本文件由广西医学会提出、归口并宣贯。

本文件起草单位：广西壮族自治区生殖医院、山东大学附属生殖医院、广西壮族自治区妇幼保健院、柳州市妇幼保健院、南宁市第二人民医院、广西壮族自治区人民医院、广西医科大学第一附属医院、玉林市妇幼保健院、广州医科大学附属妇女儿童医疗中心、贵阳市妇幼保健院、陆军军医大学第一附属医院、珠海市妇幼保健院、梧州市工人医院、广州市妇女儿童医疗中心柳州医院。

本文件主要起草人：林忠、高媛、覃爱平、莫似恩、罗世强、潘建延、韦慧、牛向丽、莫毅、邹洋、周红、李伍高、舒金辉、李娇、范莉、李荣、唐宁、刘俐伶、何升、黄朋、江莉、罗宇迪、王春霞、Donald Leigh、孙玲、余蕾、何畏、蔡桂丰、王莉、苏胜红。

地中海贫血胚胎植入前遗传学检测规范

1 范围

本文件界定了地中海贫血胚胎植入前遗传学检测的术语和定义以及缩略语，规定了地中海贫血胚胎植入前遗传学检测的基本要求、适宜及禁忌人群、检测流程及要求、质量控制以及实验室生物安全的要求。

本文件适用于医疗机构地中海贫血胚胎植入前遗传学的检测。

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。

GB 19489 实验室生物安全通用要求

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

地中海贫血胚胎植入前遗传学检测 preimplantation genetic testing for thalassemia

在胚胎移植入宫腔前，通过遗传学技术对活检的卵母细胞极体或胚胎细胞进行地中海贫血基因检测，对检测后数据进行遗传信息分析，判断卵母细胞或胚胎的地中海贫血基因携带情况，选择检测范围内未携带地中海贫血致病变异基因或携带地中海贫血致病变异基因所致遗传性状在可接受范围内的胚胎移植入宫腔，最终避免中/重型地中海贫血发生的辅助生殖技术。

4 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

ADO: 等位基因脱扣 (Allele Drop-out)

DNA: 脱氧核糖核酸 (Deoxyribonucleic Acid)

EDTA: 乙二胺四乙酸 (Ethylene Diamine Tetraacetic Acid)

Gap-PCR: 缺口聚合酶链式反应 (Gap Polymerase Chain Reaction)

HSA: 人血清白蛋白 (Human Serum Albumin)

ICM: 内细胞团 (Inner Cell Mass)

ICSI: 卵胞浆内单精子注射 (Intracytoplasmic Sperm Injection)

IVF-ET: 体外受精-胚胎移植 (In Vitro Fertilization and Embryo Transfer)

PGT-A: 胚胎植入前非整倍体遗传学检测 (Preimplantation Genetic Testing for Aneuploidy)

PGT-M: 胚胎植入前单基因遗传病检测 (Preimplantation Genetic Testing for Monogenic Disease)

SNP: 单核苷酸多态性 (Single Nucleotide Polymorphism)

STR: 短串联重复序列 (Short Tandem Repeat)

TE: 滋养层 (Trophectoderm)

5 基本要求

5.1 遗传学检测实验室的设备、场地等要求参见《医疗机构临床基因扩增检验实验室工作导则》的规定。

5.2 地中海贫血胚胎植入前遗传学检测相关的临床医师、护士及技师等专业技术人员的要求参见《人类辅助生殖技术规范》《医学检验实验室基本标准（试行）》《医学检验实验室管理规范（试行）》及《医疗机构临床基因扩增检验实验室管理办法》的规定。

6 适宜及禁忌人群

6.1 适宜人群

夫妇双方为地中海贫血致病变异携带者，并有生育中间型/重型地中海贫血患儿风险，遵从自愿原则和伦理委员会批准原则。

6.2 禁忌人群

- 符合如下条件之一：
- 患有《中华人民共和国母婴保健法》规定的不宜生育的遗传性疾病；
 - 患有目前无法进行胚胎植入前遗传学检测的遗传性疾病；
 - 基因诊断或基因定位不明的情况；
 - 其它不应实施辅助生殖技术的情况。

7 检测流程及要求

7.1 检测流程

地中海贫血胚胎植入前遗传学检测流程见图1。

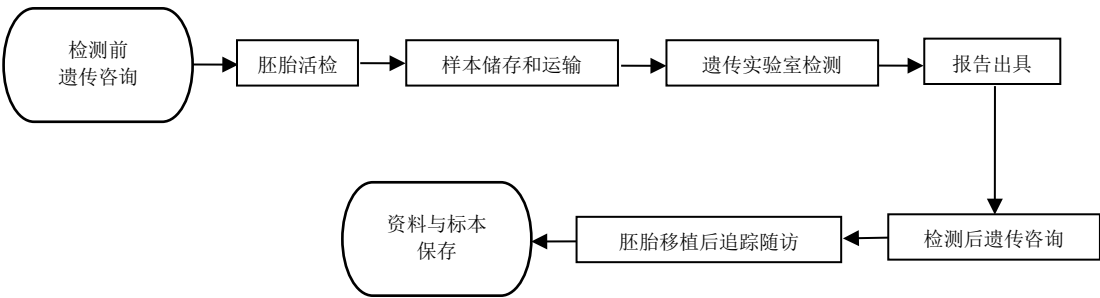


图1 地中海贫血胚胎植入前遗传学检测流程

7.2 检测要求

7.2.1 检测前准备

7.2.1.1 检测前遗传咨询

7.2.1.1.1 应告知患者及其家属以下事项：

- 地中海贫血的临床表现、治疗效果、干预措施（包括自然妊娠后产前诊断）等；
- 辅助生殖技术的优缺点和可能的风险；
- 胚胎植入前遗传学检测的性质、目的、意义、技术方法及其局限性和可能的风险、现行技术的替代方法及各自的优势和局限性等。

7.2.1.1.2 确认患者是否选择植入前遗传学检测技术，询问患者遗传病的家族史、先证者的情况、致病基因的检测方法和结果以及孕产史等；核对男女双方地中海贫血基因型和表型；必要的原始资料或其复印件保存留档。若患者选择胚胎植入前遗传学检测干预，则继续以下流程：

- 为患者提供遗传咨询服务并解释知情同意书中的要点，指导选择行胚胎植入前遗传学检测的患者签署知情同意书。地中海贫血相关胚胎植入前遗传学检测遗传咨询意见书见附录 A，地中海贫血胚胎植入前遗传学检测知情同意书见附录 B；
- 填写家系信息表，应使用 EDTA 抗凝管采集男女双方及家系成员 2 mL~5 mL 外周血，依据家系成员致病变异检测结果和家系是否齐全选择不同的单体型构建方案，家系齐全采用家系成员

构建单体型，家系不全利用胚胎反推或男女双方样本用单分子测序构建单体型，不宜采用单精子或极体构建单体型；

c) 胚胎活检样本在进行地中海贫血 PGT-M 时宜同时行 PGT-A 检测。

7.2.1.2 胚胎活检

7.2.1.2.1 填写地中海贫血胚胎植入前遗传学检测申请书，见附录 C。

7.2.1.2.2 采用唯一编号对活检细胞进行编号。

7.2.1.2.3 宜采用囊胚滋养外胚层细胞的活检，见附录 D。

7.2.1.3 样本储存和运输

7.2.1.3.1 将细胞转入全基因组扩增试剂盒细胞保存液或裂解液，按试剂说明书温度运输及保存。

7.2.1.3.2 样本在 2℃~8℃冷藏条件下运输，运输时间不宜超过 4 h；-20℃以下冷冻运输时间不宜超过 72 h。

7.2.1.3.3 剩余的全基因组扩增样本应在 -80℃及以下保存至产后 2 年以上。如销毁，应按《医疗废物管理条例》的要求执行。

7.2.2 遗传实验室检测

见附录 E。

7.2.3 检测后处理

7.2.3.1 报告出具

7.2.3.1.1 宜在接收到待检物的 30 个工作日内完成检测并出具报告，其中发出因检测失败需再次采样的通知应不长于 15 个工作日。

7.2.3.1.2 检测报告应满足但不限于以下要求：

- 明确受检者的基本信息，包括姓名、性别、年龄、患者适应证等；
- 明确样本的基本信息，包括样本唯一编号、样本类型、采样日期、样本接收日期等；
- 注明检测项目、检测方法及其检测局限性等；
- 每个胚胎的检测结果，包含染色体倍性及胚胎基因型（正常、致病变异杂合子、纯合子或复合杂合子）；
- 每个胚胎的检测结果解释，包含对检测中发现的染色体拷贝数变异的致病性分类，包括致病性、可能致病性、临床意义不明、可能良性和良性；
- 明确检测机构信息和报告日期；
- 检测人、报告审核签发人签字；
- 明确其他相关提示与声明。

7.2.3.2 检测后遗传咨询

7.2.3.2.1 临床医师应向患者解释各胚胎的检测结果，根据检测结果明确胚胎的处置方式并根据具体情况为患者提供专业建议；对于结果为可移植的低风险胚胎，告知风险，必要情况签署知情同意书；对于谨慎移植的胚胎，应仔细告知风险并签署知情同意书。

7.2.3.2.2 与患者确认胚胎移植顺序：在整倍体胚胎的基础上，首选无携带地中海贫血基因的胚胎，次选携带地中海贫血基因静止型和轻型胚胎，不选中重型胚胎。中重型 α -地中海贫血其疾病严重程度的基因顺序的规律为： $(\alpha\alpha^T/--) < (\alpha-/--) < (-\alpha/--) < (\alpha^T\alpha^T/--) < (-\alpha^T/--) < (--/--)$ ，中重型 β -地中海贫血疾病严重程度的基因顺序的规律为： $(\beta^+/\beta^+) < (\beta^0/\beta^+) < (\beta^0/\beta^0)$ 。

7.2.3.3 胚胎移植后追踪随访

随访内容包括：胚胎移植后妊娠的情况、产前诊断（包括羊膜腔穿刺等）进一步评估胎儿的遗传状况、地中海贫血胚胎植入前遗传学检测和产前诊断结果的一致性、产科情况、妊娠结局、胎儿和（或）出生后新生儿血常规、地中海贫血筛查、地中海贫血基因检测和其它的临床诊断。

7.2.3.4 资料与标本保存

地中海贫血胚胎植入前遗传学检测全过程相关的原始资料,包括患者的病案、知情同意书、检测申请单、原始实验数据记录、相关的电子信息文档、检测报告单等,均应在医疗机构保存30年以上,剩余胚胎全基因组扩增样本应在-80℃及以下保存至产后2年以上。

8 质量控制

8.1 活检细胞及其扩增样本应采用唯一编号并与申请单及报告单保持一致,标识清晰、样本无破损、无污染。

8.2 应建立地中海贫血单体型分析流程、胚胎活检细胞全基因组扩增样本地中海贫血致病位点检测流程、胚胎全基因组染色体拷贝数分析流程。

8.3 应建立产前诊断与胚胎植入前遗传学检测结果不符的样本及检测结果溯源流程,若条件允许,宜建立胚胎与家系成员的个体识别流程。

8.4 构建单体型进行连锁分析时,应在靶基因上下游各选择至少两个紧密连锁 SNP 位点或 STR 位点,如在连锁分析时发现靶基因附近发生重组或遗传标记位点不足的情况,宜进行致病位点检测验证连锁分析结果。

8.5 所有实验操作应在 B2 级或以上生物安全柜或百级或以上超净工作台内进行,且做好避免交叉污染措施。扩增前处理标本时操作者应穿隔离衣、戴口罩、帽子。吸头、试剂等所有耗材应无外源性 DNA 及 DNA 酶。吸头宜带有滤膜。

8.6 所有关键步骤(如全基因组扩增、文库构建、测序等)的操作应至少由 2 人完成,1 人操作,1 人核对并记录,关键步骤宜拍照记录。

8.7 胚胎检出率应 $\geq 96\%$,囊胚复苏存活率应 $\geq 95\%$ 。

注:胚胎检出率=质控合格并能判读结果的胚胎数/活检胚胎数 $\times 100\%$,囊胚复苏存活率=存活囊胚数/解冻囊胚数 $\times 100\%$ 。

8.8 胚胎植入前遗传学检测前、检测后遗传咨询率应为 100%,移植后随访率应为 100%。

8.9 地中海贫血胚胎植入前遗传学检测的夫妇应行 ICSI 助孕。

8.10 应对所有电子数据及纸质材料进行长期存储,涉及性别的检测结果应双人双锁,宜电子数据进行双重备份。

8.11 若条件允许,宜建立单独的生物样本库保存家系成员样本及胚胎全基因扩增样本。

8.12 未经患者同意,不应公开患者检测产生的数据和资料。

8.13 若活检后的标本外送第三方检测机构进行实验分析,送检机构应与第三方检测机构进行标本进出、运输、接收及标记体系的记录,宜就相关环节签署法律、保险和责任的正式合同。

8.14 应建立随访体系,关注临床病例的回访情况,通过追踪移植后妊娠、流产、活产及出生后婴儿的情况,对工作做出及时总结和回顾。

9 实验室生物安全

应符合 GB 19489 的规定。

附 录 A
(资料性)

地中海贫血相关胚胎植入前遗传学检测遗传咨询意见书

见表A.1。

表A.1 地中海贫血相关胚胎植入前遗传学检测遗传咨询意见书

地中海贫血相关胚胎植入前遗传学检测遗传咨询意见书	
女方姓名：_____ 出生日期：_____ 男方姓名：_____ 出生日期：_____	
G_____ P_____ A_____ L_____ 不良生育史：_____	
咨询原因：	
1. 地中海贫血属于常染色体隐性遗传病，属于单基因遗传性疾病	女 方 _____ : 男 方 _____ :
2. 染色体异常 核型：_____	女 方 _____ : 男 方 _____ :
3. 其它遗传性疾病	女 方 _____ : 男 方 _____ :
咨询意见： 一、地中海贫血家系的生育规律 地中海贫血属于一种常染色体隐性遗传病，若夫妻双方携带同型地中海贫血致病基因变异，按照孟德尔遗传定律，理论上约 1/4 机率生育正常不携带已知变异的子代、约 1/2 机率生育携带致病基因变异的子代，约 1/4 机率生育复合杂合或纯合致病变异的异常子代。如果合并其他遗传性问题，包括染色体非整倍体，生育健康子代的比例会进一步降低，应进一步行遗传咨询。 二、可能的生育选择 自然受孕后行产前诊断：自然受孕后强烈建议在孕 16~22 周时羊膜腔穿刺行羊水细胞的地贫分子检测。此方式可能面临风险：受孕率低，流产率高，胎儿畸形、染色体异常、死胎等，需承受由于受累胎儿而行反复人工终止妊娠及终止妊娠手术带来的并发症如宫腔粘连及其造成的妊娠困难等风险。 染色体异常的说明：若发生染色体异常，可移植胚胎比例会降低，应进一步遗传咨询。 地中海贫血胚胎植入前遗传学检测面临以下风险：当全部胚胎被诊断为异常时，无可移植胚胎；地贫合并染色体平衡易位携带者胚胎植入前遗传学检测中，可能存在正常与染色体平衡携带者胚胎无法区分的情况；早期胚胎有较高染色体嵌合现象，而嵌合现象包括生物学和技术两方面原因，比如内细胞团与滋养外胚层细胞的不一致、活检位置与嵌合的不可预知性等等，均可导致检测结果与内细胞团真实遗传学信息的不一致而导致的误诊或漏诊；由于胚胎活检样本的稀缺及痕量性质，分子遗传检测有很小机率发生检测失败；由于个体差异，胚胎植入前遗传学检测后依然有胚胎着床失败、流产、其它出生缺陷发生等不良结局发生的可能。 三、我们选择：胚胎植入前遗传学检测；自然受孕结合产前诊断；使用供精或供卵；不生育；其它。 其他情况说明：_____，经遗传咨询，已详细告知各种生育方式的益处与风险，患者了解病情，要求_____，愿意承担相关风险。 四、告知成功受孕后应该进行产前诊断。 女方签名：_____ 日期：_____ 年 ____ 月 ____ 日 男方签名：_____ 日期：_____ 年 ____ 月 ____ 日 医生签名：_____ 日期：_____ 年 ____ 月 ____ 日	

附录 B

(资料性)

地中海贫血胚胎植入前遗传学检测知情同意书

见表B.1。

表B.1 地中海贫血胚胎植入前遗传学检测知情同意书

地中海贫血胚胎植入前遗传学检测知情同意书

胚胎植入前遗传学检测 (PGT) 是以 IVF-ET 技术为基础, 结合胚胎显微操作、分子诊断技术, 以活检的一到数个细胞进行遗传学检测/筛查, 选择合适的胚胎移植入宫腔的技术。_____生殖医学中心 (以下简称“生殖医学中心”) 已为我们提供了详细的咨询服务, 向我们详细地解释了 PGT 的适应证: 包括多种遗传性疾病如地中海贫血等基因性疾病、染色体非平衡的结构异常、染色体数目异常, 以及微小片段插入、缺失与重复等。

我们要求进行 PGT 技术的原因是_____。医生告知我们: 除 PGT 外, 目前也可以选择其它的途径获得正常的子代, 如自然妊娠后的产前诊断技术或配子捐赠技术。医生还向我们详细解释了 PGT 的过程、费用、妊娠率和诊断的准确性以及目前的技术仍然存在误诊的风险等。

一、我们对以下内容充分理解:

- PGT 过程中可能出现常规 IVF-ET 技术的并发症。
- PGT 过程中需要进行 ICSI。
- PGT 过程中可能因为无囊胚形成, 导致无法进行 PGT。PGT 也有检测失败的风险。因此, 有可能需要重新活检胚胎或整个技术过程。
- 地中海贫血属于常染色体隐性遗传病, 夫妇双方携带常染色体隐性遗传性疾病基因, 其理论上可获得约 1/4 正常不携带家系已知变异的胚胎、1/2 携带致病基因的胚胎, 1/4 复合杂合或纯合变异致病的异常胚胎。如果合并其他遗传性疾病, 可移植胚胎比例会降低, 应进一步遗传咨询。
- 由于性染色体 (X 或 Y) 结构的特殊性, 分子诊断的敏感性和特异性会受到影响, 因而性染色体检测的敏感性和特异性低于其它常染色体的检测, 存在误诊风险。
- 植入前胚胎可能存在嵌合体, 因此活检的细胞可能不代表胚胎内细胞团的全部遗传组成, 存在活检的细胞诊断为正常, 但移植的胚胎却是异常的可能。
- PGT 本身有一定局限性, 不同技术平台皆存在 ADO 的风险, 影响检测结果。另外, 高通量测序技术可能存在基因组纯合区域 (ROH)、多倍体等遗传变异漏检的风险。受各个检测技术分辨率的限制, 目前尚难以进行高于检测分辨率的诊断, 也不能确认移植后新发生的染色体片段微缺失或微重复等。
- PGT 妊娠后有义务根据医生的安排和要求进行必要的产前诊断, 如绒毛活检、羊膜腔穿刺或脐带穿刺等。
- 医生已经告知我们, 地中海贫血 PGT 所移植的“合适的胚胎”是指针对我们已明确地中海贫血基因特定变异进行遗传检测诊断后所得到的、目前认为可移植的胚胎, 并不能区分其它基因可能的异常, 并不代表是完全正常的胚胎。
- 由于 PGT 仅限于检测和诊断特定的遗传性状, 而影响胚胎发育还存在许多已知和未知因素, 因此在 PGT 后获得的妊娠, 也有流产、宫外孕、胎儿畸形等异常的可能。目前资料提示其发生率与自然妊娠近似。
- 因为影响妊娠的因素很多, PGT 后并不能保证每一个周期都能够有可以移植的胚胎, 该生殖医学中心近年来进行 PGT 的活检成功率约为____%, 诊断率为____%。平均临床妊娠率为____%~____%。

二、我们在完全知情的情况下表示:

- 我们_____(请求) 生殖医学中心为我们进行胚胎植入前遗传学检测。
- 我们充分_____(理解) 并自愿_____(接受) 以上可能出现的及其它不可预知的风险。
- 我们要求移植的胚胎为:
 - _____(无携带) 特定疾病基因的胚胎。
 - 无携带特定疾病基因的胚胎或_____(携带) 特定疾病基因 (杂合子) 的可移植胚胎。
- 我们_____(保证) 在采用 PGT 技术获得妊娠后进行相关产前诊断, 否则我们自行承担由此导致的一切后果。
- 我们_____(知道) 我们有义务接受生殖医学中心对我们的妊娠情况及出生的后代进行随访, 我们_____(保证) 我们存留在生殖医学中心病历上的通讯地址、电话等个人信息是真实的。

其他情况说明:

我们相信生殖医学中心会采取目前适合的技术为我们进行胚胎植入前遗传学检测, 并尽可能避免上述异常情况发生。我们已认真阅读并完全理解了 PGT 治疗的有关细则, 并就我们关注的问题与医生进行了讨论, 且得到了满意的答复。我们了解我们的决定不影响其它任何的治疗, 我们有权利在任何时候退出该项技术。我们声明, 我们在没有任何压力和完全知情的情况下要求采用胚胎植入前遗传学检测 / 筛查并自愿签署本知情同意书。

女方签名: _____ 日期: _____ 年 _____ 月 _____ 日

男方签名: _____ 日期: _____ 年 _____ 月 _____ 日

医生签名: _____ 日期: _____ 年 _____ 月 _____ 日

(注: 签署本知情同意书的同时, 需要签署 IVF-ET 知情同意书、ICSI 知情同意书)

附 录 C
(资料性)
地中海贫血胚胎植入前遗传学检测申请书

见表C.1。

表C.1 地中海贫血胚胎植入前遗传学检测申请书

地中海贫血胚胎植入前遗传学检测申请书					
女方姓名：_____ 年龄：____岁，染色体核型：_____ 地贫基因型：_____					
男方姓名：_____ 年龄：____岁，染色体核型：_____ 地贫基因型：_____					
病历号：_____ 时间：_____ 周期数：_____					
指征：_____ 医院：_____					
活检方法： <u>机械法/激光法</u> 活检时间：_____ 送检时间：_____					
胚胎检测项目：_____ 基因的_____ 突变位点					
☐ 同时检测突变位点与染色体拷贝数变异					
☐ 只检测突变位点，不检测染色体拷贝数变异					
其他：_____					
胚胎序号	胚胎时期	胚胎评级	活检细胞数（个）	样本编号	样本类型
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					

附 录 D
(资料性)
囊胚活检操作流程

D.1 活检前准备

D.1.1 环境

D.1.1.1 实验室温度为 23℃~27℃，相对湿度为 40%~60%，培养气体浓度为 6%CO₂、5%O₂，满足胚胎培养条件。

D.1.1.2 操作台应防震、防污染。

D.1.2 人员

操作者应接受显微操作培训，熟练使用激光和显微操作工具。

D.1.3 囊胚培养

D.1.3.1 受精卵培养至第 5~6 天，观察囊胚发育至第 4 期（扩张期）或更高阶段（如 5 期开始孵出）。

D.1.3.2 使用倒置显微镜评估囊胚质量，筛选符合活检要求的囊胚（如内细胞团清晰、滋养层细胞均匀）。

D.1.4 设备与试剂准备

配备激光系统或机械法工具（如显微针）、活检液（含HSA或蛋白补充的培养液）、显微操作仪（如固定针、活检针）、低温载体。

D.2 活检操作

D.2.1 使用激光或机械法在透明带ICM对侧位置打孔。

D.2.2 滋养层细胞取样如下：

- d) 显微操作取样：通过固定针稳定囊胚，用活检针从开口处轻柔吸取 5~10 个外滋养层细胞（TE 细胞），避开 ICM，取样不应影响胚胎发育潜能；
- e) 样本处理：将活检细胞转移至微量离心管，标记后送遗传学实验室进行检测。

D.3 胚胎冷冻保存

采用玻璃化冷冻技术保存活检后胚胎，等待遗传学检测结果。

D.4 风险控制

D.4.1 不应过度取样，活检细胞过多影响胚胎存活。

D.4.2 应进行污染防控，操作全程无菌操作。

D.4.3 操作动作应轻柔。

D.5 特殊情况处理

D.5.1 若囊胚延迟发育，第6天囊胚活检应延长培养至第7天。

D.5.2 若活检失败，应评估是否重复操作或放弃检测。

附录 E
(资料性)
遗传实验室检测

E.1 胚胎活检样本检测流程

E.1.1 单细胞扩增阶段

E.1.1.1 全基因组扩增质控：根据下游实验平台选择全基因组扩增方法，需设置采样空白管。

E.1.1.2 污染防控满足以下要求：

- 操作应在生物安全柜或超净工作台内完成，污染率<0.1%；
- 试剂分装使用，不应反复冻融；加样使用灭菌带滤芯一次性使用吸头。

E.1.2 检测分析阶段

E.1.2.1 检测方法验证满足以下要求：

- 建立的检测体系或方法学应利用已知检测结果的废弃胚胎、细胞株、单淋巴细胞和/或口腔粘膜单细胞等进行验证；
- 商品化试剂应通过已知结果的废弃胚胎、单淋巴细胞等样本验证。

E.1.2.2 设立阴性与阳性对照序列，地中海贫血 PGT 关键质控点及控制要求见表 E.1。

表 E.1 地中海贫血 PGT 关键质控点及控制要求

检测环节	质控指标	接受标准	质控频率
单细胞扩增	扩增成功率	≥96%	每批次
突变分析	阳性对照检出率	100%	每批次

E.1.2.3 检测平台选择与操作满足以下要求：

- 检测方法包括单细胞全基因组扩增和下游检测实验，下游检测平台包括 SNP 芯片、高通量测序或多重 PCR 等，全基因组扩增方法根据下游检测平台选择；
- 结合试剂说明书、设备说明书建立本实验室的项目检测操作流程及结果分析流程。

E.1.2.4 反向点杂交、多重 Gap-PCR 及基因测序等检测方法均应进行全基因组扩增样本检测验证方法是否可行，并结合表 E.2 选择合适的检测方法。

表 E.2 常用变异位点检测方法

检测方法	效用
反向点杂交	是地中海贫血基因突变检测的常规方法，可实现特定突变的快速准确识别，如 β-地中海贫血的 CD41-42(-TCTT) 变异等
多重 Gap-PCR	可同时检测地中海贫血几种常见的缺失变异，如东南亚缺失型等
基因测序	基因突变检测可利用该方法分析

E.1.2.5 数据分析与结果判读质控满足以下要求。

- 连锁分析满足：
 - 无论家系是否齐全，构建的单体型都应在变异位点的上下游各有两个有效的遗传标记位点，如不能达到应辅以变异位点直接检测结果；
 - 家系齐全的情况下利用家系成员构建单体型，家系不全的情况下利用胚胎反推或长读长测序构建单体型进行连锁分析。
- 嵌合体判定：胚胎染色体拷贝数分析，各实验室依据检测平台确定嵌合报告比例，如 20%或 30%，嵌合胚胎应结合临床指征决策胚胎移植方案。

- 数据分析：结果的判读应使用专业数据分析软件及人工分析相结合，且应至少两线独立分析，结果一致才能发放报告。
- 结果验证：在连锁分析时遗传标记位点不足的情况下，连锁分析结果与变异位点检测结果应一致，如不一致，应使用第二种检测平台重新检测。
- 遗传咨询：胚胎检测结果的解释应使用通俗易懂的方式告知患者，协助患者理解检测结果意义，遗传咨询参考《胚胎植入前遗传学检测的遗传咨询专家共识》。

E.2 人员培训与设备维护

- E.2.1 应定期组织实验室人员接受专业技术培训，掌握前沿技术并遵守操作规范。
- E.2.2 应定期实施实验设备校准与维护。

E.3 质量监控与持续改进

- E.3.1 应设置专项内部质控样本并定期检测，监控实验过程变异。
- E.3.2 应参与外部质量评估计划，通过实验室间比对及时发现并纠正潜在问题。

参 考 文 献

- [1] 中华人民共和国母婴保健法
- [2] 产前诊断技术管理办法（国家卫生健康委员会令第2号修订）
- [3] 关于印发医疗机构临床基因扩增检验实验室管理办法的通知（卫办医政发〔2010〕194号）
- [4] 临床基因扩增检验实验室工作规范（卫医发〔2002〕10号）
- [5] 医疗机构临床基因扩增检验实验室工作导则（卫办医政发〔2010〕194号）
- [6] 医疗废物管理条例（中华人民共和国国务院令第588号修订）
- [7] 人类辅助生殖技术规范（卫科教发〔2003〕176号）
- [8] 医学检验实验室基本标准（试行）（国卫医发〔2016〕37号）
- [9] 医学检验实验室管理规范（试行）（国卫医发〔2016〕37号）
- [10] 徐艳文, 黄国宁, 孙海翔, 等. 高通量基因测序植入前胚胎遗传学诊断和筛查技术规范（试行）[J]. 生殖医学杂志, 2017, 26(5): 391-8.
- [11] 胚胎植入前遗传学诊断/筛查专家共识编写组. 胚胎植入前遗传学诊断/筛查技术专家共识[J]. 中华医学遗传学杂志, 2018, 35(2): 151-5.
- [12] 黄锦, 加加林, 王云, 等. 植入前遗传学诊断及筛查技术的实验室质量控制体系[J]. 生殖与避孕, 2018, 38(8): 643-6.
- [13] 刘心蕊, 黄色新, 高明, 等. 胚胎植入前遗传学检测技术质量控制[J]. 中华生殖与避孕杂志, 2024, 44(7): 696-9.
- [14] 中国遗传学会遗传咨询分会, 中国医师协会医学遗传医师分会生殖遗传学组, 出生缺陷防控协同创新共同体, 等. 胚胎植入前遗传学检测的遗传咨询专家共识[J]. 中华妇产科杂志, 2024, 59(12): 899-909.
- [15] 张宁媛, 黄国宁, 范立青, 等. 胚胎植入前遗传学诊断与筛查实验室技术指南[J]. 生殖医学杂志, 2018, 27(9): 819-27.
- [16] 胡晓坤, 徐艳文. 胚胎植入前遗传学检测技术临床风险防范指标[J]. 中华生殖与避孕杂志, 2024, 44(7): 691-695.

中华人民共和国团体标准
地中海贫血胚胎植入前遗传学检测规范
T/GXAS 1092—2025
广西标准化协会统一印制
版权专有 侵权必究