

·规范与标准·

单基因病胚胎着床前遗传学检测专家共识

中国医师协会生殖医学专业委员会, 中国医师协会医学遗传医师分会

通信作者: 乔杰, Email: jie.qiao@263.net, 电话: +86-10-82265080; 张学, Email: xuezhang@pumc.edu.cn, 电话: +86-451-86636006

【摘要】 随着分子生物学技术、遗传诊断技术的发展以及相关术语的更新, 单基因病胚胎着床前遗传学检测 (preimplantation genetic testing for monogenic/single gene disorders, PGT-M) 技术不断进步和更新, 广泛应用于临床以避免遗传病患儿的出生和阻断致病基因的家族传递。目前, 关于 PGT-M 的共识还很少, 为了规范 PGT-M 的应用, 中国医师协会生殖医学专业委员会精准辅助生殖研究学组及中国医师协会医学遗传医师分会部分专家, 包括生殖医学、遗传学和心血管医学专家, 共同制定了这一共识。共识包括 PGT-M 的适应证、禁忌证、诊断策略、遗传和生殖咨询、报告形式、结果解释、知情同意和患者随访等。这一共识将使更多相关的临床工作者和研究人员获益, 供临床及实验室参考使用。

【关键词】 着床前遗传学检测; 单基因病; 专家共识

基金项目: 国家重点研发计划 (2018YFC1003104、2019YFA0801400、2018YFC1004000)

A Chinese experts' consensus on preimplantation genetic testing for monogenic disorders

Professional Committee on Reproductive Medicine, Chinese Medical Doctor Association; The Society of Medical Geneticists, Chinese Medical Doctor Association

Corresponding authors: Qiao Jie, Email: jie.qiao@263.net, Tel: +86-10-82265080; Zhang Xue, Email: xuezhang@pumc.edu.cn, Tel: +86-451-86636006

【Abstract】 Upon the recent advances in molecular biological techniques and genetic diagnostic strategies, along with the updates on relevant terminologies, new methods of preimplantation genetic testing for monogenic/single gene disorders (PGT-M) are developed to prevent transmissions of inherited diseases. However, few consensuses on PGT-M have been published. In order to properly regulate the application of PGT-M, experts from the field of reproductive medicine and genetics jointly drafted this consensus, which includes indications for patient selection, diagnostic strategy, genetic and reproductive counseling, report generation, result interpretation, informed consent and patient follow-ups, etc. This consensus serves to benefit everyone interested in PGT-M in establishing evidence-based clinical and laboratory practices.

【Key words】 Preimplantation genetic testing; Monogenic disorders; Expert consensus

Fund program: National Key Research and Development Program (2018YFC1003104, 2019YFA0801400, 2018YFC1004000)

单基因病是指由单个基因突变所导致的疾病, 突变可发生于一条染色体上的基因或同时发生在两条同源染色体上的等位基因上。根据在线人类孟德尔遗传数据库 (Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM) 统计, 截止到 2020 年 11 月, 已发现的单基因

病超过 7000 种, 其中已明确表型和分子致病机制的有近 6000 种。虽然单基因病多属于罕见病, 但发病率超过 1%, 部分患者的临床表现为致死、致残、致愚, 对健康危害极大。因此, 为预防或阻止由此引起的出生缺陷, 迫切需要通过产前或者单基因

DOI: 10.3760/cma.j.cn101441-20210118-00030

收稿日期 2021-01-20 本文编辑 孙敏

引用本文: 中国医师协会生殖医学专业委员会, 中国医师协会医学遗传医师分会. 单基因病胚胎着床前遗传学检测专家共识[J]. 中华生殖与避孕杂志, 2021, 41(6): 477-485. DOI: 10.3760/cma.j.cn101441-20210118-00030.



病胚胎着床前遗传学检测 (preimplantation genetic testing for monogenic/single gene disorders, PGT-M) 技术进行干预。PGT-M 可以对着床前胚胎进行致病基因变异诊断,选择没有疾病表型的胚胎移植入子宫,阻断疾病向子代传递。

随着分子遗传诊断技术和测序技术的发展,越来越多单基因病的致病基因被明确,临床对 PGT-M 的需求日益增长。新的胚胎遗传检测策略和方法同步开发与应用,推动了相关指南与共识的更新,欧洲人类生殖和胚胎学学会 (European Society of Human Reproduction and Embryology, ESHRE) 从 2005 年至 2020 年 3 次更新了 PGT-M 的实践指南^[1];美国人类生殖研究所 (Institute for Human Reproduction, IHR) 于 2015 年提出了用于人类白细胞抗原 (human leukocyte antigen, HLA) 配型的 PGT-M 指南^[2]; Girard 等^[3]于 2016 年提出了针对高加索人群最常见的单基因遗传病——囊性纤维化的 PGT-M 指南。

近年来,PGT-M 技术在我国的应用取得了稳步、快速的发展,具有相应检测资质的辅助生殖机构不断增多。因此,为了规范该项技术安全有效地实施,需要根据我国国情特点以及临床应用的实际情况等,制定与之相适应的共识,进一步规范技术的应用。由中国医师协会生殖医学专业委员会精准辅助生殖研究学组和中国医师协会医学遗传医师分会部分专家讨论,形成了以下有关 PGT-M 技术方面的专家共识。本共识涵盖了 PGT-M 相关实验室方法和遗传检测策略与质控管理等建议,供临床及实验室参考使用。

一、PGT-M 适应证与禁忌证

1. PGT-M 适应证:基因突变为明确致病或致病基因连锁标记明确的家系,可以进行 PGT-M,且需综合考虑疾病的严重程度及就诊家系的实际情况^[4]。

(1) 单基因病:夫妻一方为单基因病患者或夫妻双方是同一单基因病的携带者,曾孕育或具有生育致畸、致残、致死的单基因病患儿高风险的夫妻,可以进行 PGT-M^[5]。

(2) 线粒体病:由细胞核基因突变导致的线粒体病,PGT 检测策略同常规单基因病;由线粒体 DNA (mitochondrial DNA, mtDNA) 突变导致的线粒体病,因大多数突变具有异质性^[6-7],需要个案咨询。

(3) HLA 分型:已生育严重血液/肿瘤疾病、原发性免疫缺陷病、遗传性代谢病等疾病患儿的夫妻,在缺乏其他有效治疗方法的情况下,需要选择生育与患儿 HLA 配型相同的同胞,对患儿进行造血干细胞移植治疗^[8-10]。

(4) 具有较高致病概率的遗传易感性严重疾病:夫妻双方或一方携带能导致严重疾病的具有高外显率、家族遗传倾向、较高致病概率的易感基因突变,如遗传性乳腺癌的 *BRCA1*、*BRCA2* 致病突变等^[11-12]。

2. PGT-M 禁忌证^[13]:①基因突变的致病性不明确或基因定位不明确的遗传性疾病;②非疾病表型的胚胎选择,如外貌、身高、体质量、性别等;③辅助生殖技术禁忌证和/或妊娠禁忌证;④其他情况,如中国法律不允许和/或经生殖医学伦理委员会讨论后不适宜 PGT-M。

3. 其他特殊情况:夫妻双方已生育一个携带新发致病基因变异的患儿,因不能完全排除男方或女方生殖腺嵌合的可能,经过充分的遗传咨询,在尊重患者夫妇意愿的前提下,可考虑自然妊娠后行产前诊断或选择 PGT-M 治疗。如有两次或以上患儿生育史或妊娠史,可能存在生殖腺嵌合,符合 PGT-M 适应证。

二、临床遗传咨询

实施 PGT-M 前,患者夫妻需先接受临床遗传咨询,充分了解遗传病的特征、诊疗进展以及生育风险^[14];告知夫妻可选择的干预措施,如胚胎着床前检测、产前诊断等,以及现阶段不同检测技术和策略的优点和局限性,夫妻知情后自愿选择。

1. 遗传咨询

(1) PGT-M 治疗前遗传咨询:进行 PGT-M 之前遗传咨询是 PGT-M 的首要关键环节,需由具有遗传咨询能力的临床医师完成。首先要参考专科疾病的临床诊断(如肾内科医师对家族性遗传性多囊性肾病的诊断和分型诊断),收集夫妻及相关家系成员的疾病相关信息、临床资料及遗传检测结果,绘制遗传家系图谱;对病情的严重性、异质性以及基因型/表型相关性进行分析确认^[15]。

在开展治疗前需告知患者夫妇,PGT-M 仅针对夫妻双方已知的且明确致病的基因突变进行检测分析,双方未知的或胚胎新发生的致病突变不在本次 PGT-M 检测范围内。

①常染色体显性遗传病及 X-连锁显性遗传病家系,需告知对于携带突变的胚胎均不予移植。

②常染色体隐性遗传病家系,携带双方突变的胚胎不予移植。对于只携带一方突变的胚胎,理论上不致病,极少数情况有较轻症状。携带一方突变的胚胎需经过遗传咨询、签署知情同意书后方可移植。

③对于 X-连锁隐性遗传病家系,携带基因突变的男性胚胎,不予移植;对于携带基因突变的女性胚胎,理论上不致病,但其男性后代有 50% 的患病风险,女性后代 50% 概率为携带者,需遗传咨询,夫妻

双方慎重考虑做出取舍胚胎的决定。

④对于单基因病合并染色体异常的家系,如平衡易位,需告知所应用技术是否可以区分正常核型和平衡易位核型等,患者自愿选择。

⑤对于临床上高度怀疑为生殖腺嵌合的夫妻,应经过咨询并评估生殖腺嵌合的来源后,可实施 PGT-M。需告知夫妻,对于生殖腺存在受累或不受累配子的情况,无论是受累的胚胎还是未受累的胚胎都可能有共同的背景单体型,进行 PGT-M 可能会丢弃带有高危单型型的未受累胚胎的风险。

(2) 胚胎检测后/移植前遗传咨询:夫妻如进行 PGT-M,检测后需要进行第二次遗传咨询,告知胚胎的检测结果和遗传疾病的风险等情况^[16]。

2. 辅助生殖技术实施过程相关咨询和处置:由妇产科生殖专业临床医师完成,包括夫妻双方一般健康和生育状态评估,控制性超促排卵(controlled ovarian hyperstimulation, COH)、卵泡监测、取卵术、卵胞质内单精子注射(intracytoplasmic sperm injection, ICSI)技术、胚胎体外培养及活检(以囊胚活检为主)、冻存胚胎等内容。

3. 风险评估与知情选择:实施辅助生殖治疗前,夫妻应对 PGT-M 过程中的各类风险充分知情:如超促排卵、取卵、精卵体外处理、ICSI、胚胎体外培养、胚胎活检及冻融可能造成的配子、胚胎损伤的风险;当患者卵巢储备低下,需要在决定 PGT-M 前充分向夫妻双方交代无卵、无胚形成及检测后无可利用胚胎的风险;胚胎细胞状态和技术局限性所致的检测失败风险;首次活检细胞检测失败,胚胎需要进行二次活检的风险;染色体嵌合型胚胎发育潜能的不确定性以及无法鉴别的染色体结构异常携带的风险^[17-18];由于胚胎特性以及技术局限性导致的无法明确诊断的风险;对于女方为遗传病患者的病例,需评估妊娠期风险;告知妊娠中期需进行产前诊断及其所带来的风险等。

所提供的咨询建议应不具有倾向性,应包括患者夫妻适用的所有生育选择,并告知遗传阻断方式如产前诊断和 PGT-M 的利弊,让夫妻充分了解并自愿选择治疗方式^[19]。相关咨询记录应清晰、完整。结合家系调查、临床资料和遗传检测结果以及相关单基因病的一般遗传发病规律,充分评估夫妻的再次生育风险。

三、PGT-M 的临床促排卵和胚胎实验室策略

1. 临床促排卵策略: PGT-M 的临床过程同常规体外受精-胚胎移植(*in vitro* fertilization and embryo transfer, IVF-ET),由于 PGT 周期希望能够获

得相对较多的胚胎以供遗传检测,从而得到一定数量的可用胚胎以供移植,对于卵巢储备功能尚可的患者,建议选择常规 COH 治疗^[20-21]。在相同的 COH 方案中,卵巢对外源性促性腺激素(gonadotropin, Gn)的反应性存在个体差异。合适的促排卵方案选择及正确应用是 IVF 成功的关键。目前 PGT-M 主要对囊胚期胚胎进行活检,新鲜周期全胚冻存。因此对 COH 高反应者,采用促性腺激素释放激素(gonadotropin-releasing hormone, GnRH)拮抗剂方案,必要时联合 GnRH 激动剂扳机,同时全胚冷冻,可以有效控制早期卵巢过度刺激综合征(ovarian hyperstimulation syndrome, OHSS)的发生率;而对反应不良者则是尽量增加获卵数,从而获得更多胚胎以供挑选。对于卵巢低反应者如常规 COH 方案失败可尝试使用自然周期、微刺激或黄体期促排卵等方案,PGT-M 如果选择这些非常规促排卵方案,需要向患者交代获卵少、可能无可利用胚胎形成、PGT-M 失败等风险,以便患者能够充分知情选择。临床取卵操作策略拟行 PGT-M 患者取卵过程与其他患者相同,经控制性促排卵后,给予 hCG(5000~10 000 IU),36~38 h 安排取卵^[22]。

2. 胚胎实验室操作

(1) 体外获取卵母细胞及精子前,辅助生殖实验室需要获知并记录患者夫妻双方的信息及 PGT 相关信息。

(2) PGT-M 周期的授精方式建议采用 ICSI 授精方式,尽最大可能减少母源颗粒细胞和父源精子对胚胎遗传学检测准确性的干扰^[23-24]。

(3) 根据胚胎发育阶段不同,可以选择卵母细胞极体、5~8-细胞期卵裂球和囊胚滋养层细胞活检^[25]。囊胚活检对胚胎发育的潜能影响较小,已成为目前 PGT-M 技术操作系列的主要活检方式。囊胚期活检是在 ICSI 后第 5~6 日、囊胚充分扩张后进行。建议活检囊胚评分应在 4BB 以上,活检细胞数以 5~8 个为宜。通常囊胚活检后的胚胎需立即冷冻保存,待胚胎遗传学分析完成后,择期对结果正常的胚胎进行复苏移植。胚胎活检是 PGT-M 的重要步骤,建议活检细胞取材量在满足遗传学检测要求的前提下,尽量减少活检细胞的数目,以降低对胚胎后期发育的影响。

①极体仅能提供来自女方的遗传信息,目前仅应用于女方为新发致病突变携带者或者没有相关家系成员用于胚胎连锁分析的情况。活检时要严格避免颗粒细胞污染^[26]。第一极体、第二极体活检一般分别在 ICSI 后 0.5~2 h、8~14 h 进行。

②卵裂球活检在胚胎发育至 6~8-细胞阶段完成,目前临床上较少应用。推荐活检 1 个胚胎细胞,最多不超过 2 个^[27]。

③囊胚滋养层细胞活检为目前 PGT-M 周期的主要胚胎活检方式^[28-29]。推荐在囊胚充分扩张期、远离内细胞团的位置进行操作,通常建议活检 5~8 个滋养层细胞,活检后单囊胚冻存,活检样本与胚胎编号一一对应。

④活检后细胞的转移、存储与运输:活检后的细胞应按照后续遗传检测要求处理并转移,避免因样本处理不当而导致的扩增失败。样本标识清晰,推荐管帽、管身均进行标记,应包括患者及胚胎信息,样本编码唯一,记录完整。待检样本应尽快完成后续遗传检测,短期存储可保存在 -20℃,扩增后的样本在 -80℃ 长期保存,避免反复冻融。运输应保证全程冷链运输。

⑤二次活检:需要二次活检的囊胚,应在解冻复苏、扩张后再实施操作。反复冻融和多次活检都会影响胚胎的着床能力与后期发育潜能。

3. 透明带打孔的常规方法有:机械法、Tyrodes 酸法和激光法。激光法鉴于其便捷、快速、高效,目前更为常用。机械法和激光法打孔可用于受精前的极体活检。囊胚活检的透明带打孔可以在受精后第 3 日、第 5 日、活检前 4 h 或活检时进行。

四、PGT-M 策略和技术

1. 建议:PGT-M 可分为检测前的验证和临床检测两部分,具体如下。

(1)检测前验证的建议:①建议对原始的分分子遗传报告中的检测信息(如致病基因、致病变异位点、致病性以及报告中所提供的基因参考序列等)进行确认^[30]。②建议明确疾病遗传方式,采集家系成员的样本,确保胚胎检测的可靠性。同时验证遗传变异在家系中的共分离符合度,以确认报告中致病基因的准确性。③建议采用携带者或患者的外周血淋巴细胞或口腔颊黏膜等,进行单个/较少细胞水平检测方案的可行性和有效性验证。④建议寻找并确定有效的遗传标记,如短串联重复序列(short tandem repeat, STR)和单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP),建立双亲单体型分型,从而制定相应的临床检测策略。

(2)临床检测的建议:①建议 PGT-M 临床检测应同时进行基因致病变异位点的直接检测和遗传多态位点(STR 或 SNP)的连锁分析,以避免因扩增失败、等位基因脱扣(allele drop-out, ADO)等因素所导致的诊断不明^[31]。②建议对于致病变异位点的连

锁分析,推荐在相应致病基因上下游 1 Mb 内,各选择不少于 2 个可用的 SNP 和/或 STR 位点用于分析。位点的选择应避免同源性高、GC 含量高或有多聚核苷酸的序列。对于家系成员不全的情况,可以利用携带致病突变的极体或者单个精子或胚胎作为连锁分析的依据。③建议在进行遗传连锁分析时,特别注意致病变异附近的基因组重组情况。④建议采用 PGT-M 联合胚胎染色体非整倍体检测(PGT for aneuploidies, PGT-A)的检测策略^[32-33]。

2. PGT-M 的检测方法:因 PGT-M 胚胎活检细胞样本稀少,在进行下游遗传学检测前建议先进行扩增,以获得充足的 DNA 样本满足拟采用的检测策略。目前 PGT-M 技术中常用的胚胎 DNA 扩增方式为单细胞全基因组扩增(whole-genome amplification, WGA)^[34]。

(1)WGA:WGA 是对单个细胞或少量细胞进行全基因组扩增的技术。其目的是在尽量减少基因序列偏好性的前提下大幅度地增加 DNA 的总量,获得基因组高覆盖率的完整的扩增产物。目前常用的 WGA 技术主要有多重置换扩增(multiple displacement amplification, MDA)^[35]、多次退火环状循环扩增(multiple annealing and looping-based amplification cycles, MALBAC)^[36]和简并寡核苷酸引物 PCR(degenerate oligonucleotide-primed polymerase chain reaction, DOP-PCR)等。

①MDA:MDA 方法扩增产物为 10~100 kb 的 DNA 片段,复制的保真性强,基因组覆盖度高,在对单核苷酸变异(single nucleotide variant, SNV)的分析以及构建大片段文库上有着显著优势。但 MDA 存在扩增偏倚,重复性稍差,应用于拷贝数变异(copy number variations, CNV)检测时需进行数据校正。

②MALBAC:MALBAC 基因组扩增存在一定可重复的序列偏好性,会造成基因组低覆盖区 CNV 诊断偏倚,可经过数据分析后进行 CNV 校正。

③DOP-PCR:由于 PCR 指数扩增,任何扩增过程中的细微偏差都会被放大,扩增产物的覆盖度较低^[37]。

(2)致病基因致病变异位点检测技术

①目标变异位点测序:即包含致病变异位点和/或遗传多态位点附近区域扩增后 Sanger 测序^[38-39]。主要用于点突变、小片段插入/缺失突变、遗传多态位点的检测。

②片段分析:针对特定 DNA 靶点设计引物,每个靶点扩增得到的大小不等的 DNA 片段;引物末端

标记荧光,PCR 后产生带不同荧光标记的 DNA 片段;产物进行毛细管电泳,利用荧光检测器对 DNA 片段进行识别和区分,从而提供片段大小、相对定量和基因分型等信息^[32,40]。

③限制性内切酶片段长度多态性(restriction fragment length polymorphism, RFLP)分析:限制性内切酶能识别特定的 DNA 序列,当致病变异生成新的或破坏了原有的限制性酶切位点时,酶切消化后会产生不同长度的片段,以此进行分析^[41]。该技术局限性在于限制性内切酶识别位点有限,而且酶切消化不完全或失败导致误诊的可能^[42]。

④实时荧光定量 PCR(quantitative real-time PCR, qPCR):变异位点(或多个位点)和遗传信息标记位点同时扩增,探针设计灵活。目前已有许多成熟的适用于 PGT-M 基因分型的 qPCR 平台和检测试剂盒^[43]。

⑤双突变扩增阻滞系统检测(dual amplification refractory mutation system, D-ARMS)结合 qPCR: D-ARMS-qPCR 方法主要用于变异类型为点突变、小片段插入/缺失突变的胚胎检测。该方法可对已知突变进行检测,但对引物特异性的依赖较高,可用该方法检测的疾病较少^[44]。

(3)致病基因的变异位点连锁分析:当胚胎样本较少或致病变异位点检测困难无法实现变异位点的直接检测时,连锁分析就更为重要。针对倒位、大片段缺失/重复等难以直接检测的变异类型,采用基因上下游和基因内部的遗传多态位点(STR 或 SNP)连锁分析进行间接诊断^[45]。

3. PGT-M 的检测策略:单细胞或少量细胞经 WGA 后进行目标变异位点检测结合家系连锁分析是目前 PGT-M 的主要检测策略^[46]。

(1)基于 WGA 的 SNP 微阵列芯片检测策略:该策略既可以检测全基因组 CNV,还可以基于 SNP 连锁分析进行单体型分型,但不能直接对突变位点进行检测,需要有先证者或相关家系成员样本。该技术已成为国内外 PGT-M 的常用检测技术^[47-49]。

(2)基于 WGA 的高通量测序检测策略:基于 WGA 的高通量测序技术越来越多地应用于临床 PGT-M^[50-53]。通过测序可同时得到胚胎染色体非整倍性信息和致病变异位点信息,同时利用致病基因周围的 SNP 位点进行连锁分析,实现一步测序完成胚胎的染色体筛查和致病变异位点检测及连锁分析。

(3)通过高通量测序使用单体型挑选 HLA 配型一致的胚胎,要求同时具有夫妻双方及患儿的 DNA 样本。使用单体型 HLA 配型需要关注的 HLA

相关基因包括 *HLA-A*、*HLA-B*、*HLA-C*、*HLA-DR* 和 *HLA-DQ*。在具体单体型分析中,要求包括上述 5 个基因所在区域的上下游各不少于 3 个可用的杂合 SNP 位点。在包括上述 5 个基因的 HLA 区域内,要求具有不少于 6 个可用的杂合 SNP 位点。在对胚胎进行 HLA 配型的同时,需同时考虑检测导致患儿疾病的突变位点,排除突变位点的遗传。同时排除染色体数量异常。在得到胚胎单体型后,对于仅有母源或父源一方匹配的半合胚胎,夫妻双方需充分知情后决定是否移植。

(4)生殖腺嵌合的家系,需要采用特殊的连锁分析策略进行诊断,并建议对目标变异位点进行直接检测。利用核心家系成员与至少两名确诊为同一单基因病的患儿确定“高危”单体型和“低危”单体型进行连锁分析。不建议使用未受累的本(子代、产前样本或胚胎)作为单体型分型参考。可通过对单个精子或极体的分析对“高危”单体型和“低危”单体型进行验证。对于生殖腺嵌合家系,理论上携带“低危”单型型的胚胎可以移植,携带“高危”单体型而未检测出致病变异的胚胎,由于单细胞扩增过程等位基因脱扣风险较大,不建议移植此类胚胎^[32,54]。

五、胚胎检测报告与移植

1. 推荐 PGT-M 检测报告应包含以下信息^[55],

①基本信息:报告标题/名称、报告的编号、分页(包括实际页数和总页数)、报告的完成日期、送检者、检测者及审核者;②患者信息:夫妻的完整姓名和唯一患者识别码、年龄、出生日期、性别及联系方式等;③临床信息:胚胎检测项目,包括单基因病诊断、HLA 分型及线粒体疾病检测,其中单基因病需列明疾病名称、遗传方式、家系致病基因及变异位点等;胚胎信息,包括取卵日期、周期数、胚胎活检样本来源、活检日期及胚胎编号等;PGT-M 包括检测结果、结果解释与移植建议等;④检测局限性和风险等。

2. 胚胎移植

(1)胚胎移植知情:①可移植胚胎的确定应在辅助生殖实验室、遗传咨询医师、遗传学检测实验室、临床医生和夫妻之间达成一致,不建议移植无结果或结论不确定的胚胎^[56-58]。②对于常染色体隐性遗传病或 X-连锁隐性遗传病,在夫妻双方充分知情后,可以考虑选择移植携带变异但不受累的胚胎;对于 PGT-M 与染色体结构异常检测(PGT for structural rearrangements, PGT-SR)/PGT-A 联合诊断,建议夫妻咨询后确定胚胎移植的优先等级;对于 HLA 分型,建议夫妻咨询后确定胚胎移植的优

先等级,告知夫妻胚胎 HLA 区域发生染色质重排的可能性及风险。③根据我国相关法律和伦理要求,不进行非医疗目的的胚胎性别告知^[56-58]。

(2)胚胎解冻、移植:PGT-M 均为囊胚冻融胚胎移植(frozen-thawed embryo transfer, FET),如筛选出可以利用的胚胎,FET 同常规 IVF-ET 患者。

①FET 时间的确定:应用自然周期、促排卵周期或人工周期建内膜,排卵后 5 d 或孕激素转化内膜后 5~7 d 后移植囊胚。②FET 囊胚数量:行 PGT-M 检测的患者,建议行单胚胎移植。③黄体支持:PGT-M 均为 FET,取卵周期不行黄体支持。自然周期或促排卵周期可于排卵后(或黄体化日后)行常规孕激素补充;人工周期建内膜患者于内膜转化日开始加用孕激素,用量及用法参考相关共识及指南^[22]。

④妊娠后孕激素使用(移植后 4 周左右 B 超提示宫内活胎后):自然周期或促排卵周期移植者继续应用黄体支持 1~3 周停药;人工周期移植者继续雌孕激素原剂量用药 3~4 周,之后 2 周内逐渐减量至完全停药^[59-60]。

六、PGT-M 的临床流程与质量管理

1. PGT-M 的临床流程: PGT-M 的一般临床流程包括遗传咨询和生殖咨询、夫妻进入辅助生殖治疗周期、IVF 和胚胎活检、遗传学检测、胚胎移植、产前诊断、新生儿随访等,具体临床流程见图 1。不同夫妻的需求存在差异,需在遵循基本临床流程的基础上,实施个体化治疗方案。

2. PGT-M 的质量管理:开展 PGT 的辅助生殖机构及人员应具备相关资质,建议遵循 ISO15189 相关条例建立 PGT-M 全流程标准操作规程(standard operation procedure, SOP)体系,严格按照 SOP 执行^[61-62]。

(1)夫妻入组质量控制:

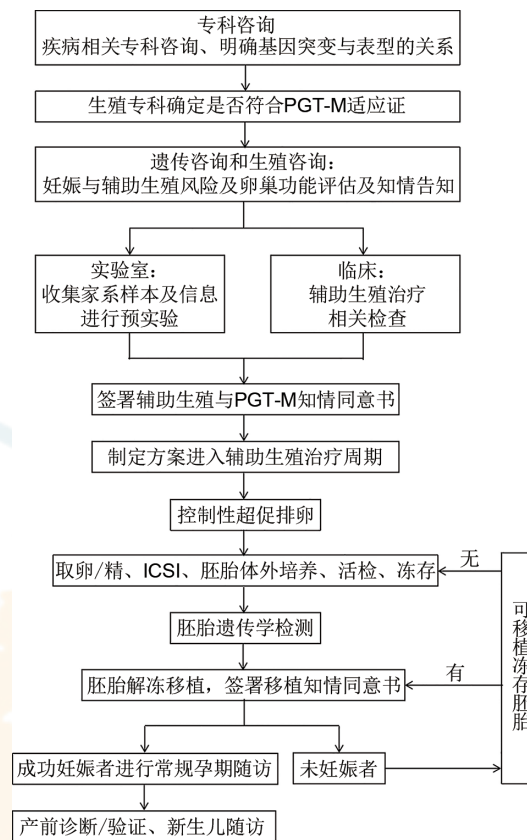
①夫妻在进入 PGT-M 治疗周期前,需接受至少一次遗传咨询,按 SOP 要求保存完整的咨询记录、知情同意书和病案记录。

②对于入组评估或伦理要求有争议的夫妻,需经过专家会诊或伦理委员会讨论后决定是否进行 PGT-M。

(2)胚胎实验室质量控制

①胚胎实验室的环境、仪器设备以及耗材使用均严格按照实验室的 SOP 进行管理。为避免交叉污染,在胚胎实验室操作中,工作人员需全程穿着外科刷手衣,佩戴外科口罩、帽子,必要时佩戴无粉手套。

②夫妻取卵前胚胎实验室应获知夫妻的相关信息,包括但不限于夫妻姓名、PGT-M 指征、活检样



注:PGT-M 示单基因病胚胎着床前遗传学检测;ICSI 示卵胞质内单精子注射

图 1 PGT-M 的临床流程

本类型(极体/卵裂球/滋养层细胞)及处理方式等。

③胚胎实验室内需设立一个独立的区域进行活检后样本处理的操作,在每日实验室工作结束之后需对该空间内的所有操作台面进行清洁和灭菌(建议使用紫外线进行灭菌),避免可能带来的外源 DNA 污染。胚胎活检要设立阴性对照样本^[23]。

④PGT-M 活检过程中所需的所有耗材及试剂均需进行单独存放和标记,并符合胚胎活检及后续遗传检测的相关要求。试剂需分装储存,避免二次使用或反复冻融带来的检测异常,试剂存放应避免温度的变化导致扩增效率的降低^[63]。活检后样本及相关试剂耗材应存放在特定区域,远离 DNA 污染源。

⑤活检操作、活检后细胞转移中的操作过程关键步骤双人核对,活检细胞的 PCR 管标识清晰、唯一,对应胚胎明确无误。PGT-M 胚胎在冷冻时,也应确认胚胎编号。活检完成后需将装有活检细胞的 PCR 管以及对应的胚胎相关信息交于遗传检测部门。遗传检测完成后,诊断报告需反馈至胚胎实验室,完成可利用胚胎的确认。

⑥所有完成 PGT-M 检测的胚胎在解冻复苏之前,确认应解冻胚胎序号,确保 PGT-M 胚胎出库无

误。在移植时,应再次与患者夫妻核对移植胚胎信息,确保无误。

⑦除了胚胎实验室自身的着床率、妊娠率、流产率等质控指标外,还应统计胚胎二次活检率、扩增失败率、阴性对照结果异常等指标。对于遗传检测失败的样本,分析活检细胞质量、细胞转移、细胞保存与运输、扩增失败原因等方面。

(3)遗传学检测实验室质量控制:实验室采用的各种检测方法都要建立相应的 SOP,不同的检测技术的需要设置质控参数,定期完成室内质控及空间质评,并做好记录。实验室遵照《医疗机构临床基因扩增检验实验室管理办法》(卫办医政发[2010]194号)的一般原则。本共识仅对实验室一般质控措施提出以下建议:

①仪器:临床检测设备均应符合临床应用标准,需定期校准、维护和保养。用于关键步骤的设备应具有不间断电源。定期进行室内质控。

②检测前质量控制:推荐收集完整家系成员的样本(外周血、组织、血片或者基因组 DNA 等),样本的采集、保存与运送需遵照 SOP,选择不同的 PGT-M 方法前,均需对方法的有效性进行测试与验证。

③检测中质量控制:实验室基础设施、设备、材料和试剂应符合相关标准;建议实验过程设置阳性和阴性对照;实验操作全流程需要双人核对,实时详细记录并签字。

④检测后质量控制:建议实验结果由两人独立平行分析,第三人审核报告,只有诊断结果清晰、明确的胚胎方可移植;样本与档案资料保存遵照 SOP 执行;对从事临床工作的实验室人员进行定期培训,定期评估考核,同时对其日常工作进行有效监督^[64]。

七、PGT-M 胚胎移植后随访

辅助生殖技术的安全性受到越来越多的关注,目前尚无证据表明 PGT-M 中胚胎活检技术、囊胚培养技术和冷冻复苏技术等会增加新生儿不良结局的风险,但其长期影响尚不确定。建议对选择 PGT-M 的夫妻,在胚胎移植后进行以下随访项目:①胚胎移植后需随访妊娠状况。②宫内持续妊娠需随访孕期情况,产前诊断结果等信息。所有 PGT-M 后妊娠的患者都应进行产前诊断,以降低胚胎诊断误诊的可能风险。③子代出生需进行长期随访,包括出生日期、单胎与多胎及绒毛膜状态、分娩孕周、分娩方式、出生身长及体质量、性别、是否存在出生缺陷,定期进行生长发育评估,包括营养、骨骼、神经、运动等各个方面。

八、总结

本共识提供了关于 PGT-M 临床和实验室实践的指导建议,并涵盖了在现有技术水平上的 PGT-M 的胚胎检测方法和策略建议,旨在帮助相关临床科室及实验室规范开展该项技术,但不作为法律依据。随着对单基因病研究的深入以及相应检测技术的不断进步,本共识也将随之进行修订完善。

执笔专家: 闫丽盈(北京大学第三医院)、黄锦(北京大学第三医院)

参与本共识编写的专家组成员(按姓氏拼音排序): 曹云霞(安徽医科大学第一附属医院)、陈子江(山东大学附属生殖医院)、杜杰(首都医科大学附属北京安贞医院)、黄荷凤(复旦大学附属妇产科医院)、黄锦(北京大学第三医院)、黄昱(北京大学医学部)、李蓉(北京大学第三医院)、林戈(中南大学中信湘雅生殖与遗传专科医院)、刘平(北京大学第三医院)、潘虹(北京大学第一医院)、漆洪波(重庆医科大学附属第一医院)、钱卫平(北京大学深圳医院)、乔杰(北京大学第三医院)、孙贇(上海交通大学医学院附属仁济医院)、王树玉(首都医科大学附属北京妇产医院)、郭玲仟(中南大学医学遗传学研究中心)、闫丽盈(北京大学第三医院)、姚元庆(香港大学深圳医院生殖医学中心)、张波(广西壮族自治区妇幼保健院)、张翠莲(河南省人民医院)、张学(中国医学科学院基础医学研究所)、张喆(北京大学第三医院)、赵淑云(贵州医科大学附属医院)、周灿权(中山大学附属第一医院)

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

作者贡献声明 闫丽盈、黄锦负责执笔撰写;乔杰、张学负责共识的整体指导、审校、经费支持;共识编写组所有专家均参与了文献整理、共识的讨论及修改

参 考 文 献

- [1] Carvalho F, Moutou C, Dimitriadou E, et al. ESHRE PGT Consortium good practice recommendations for the detection of monogenic disorders[J]. Hum Reprod Open, 2020, 2020(3): hoaa018. DOI: 10.1093/hropen/hoaa018.
- [2] Tur-Kaspa I, Jeelani R. Clinical guidelines for IVF with PGD for HLA matching[J]. Reprod Biomed Online, 2015, 30(2): 115-119. DOI: 10.1016/j.rbmo.2014.10.007.
- [3] Girardet A, Viart V, Plaza S, et al. The improvement of the best practice guidelines for preimplantation genetic diagnosis of cystic fibrosis: toward an international consensus[J]. Eur J Hum Genet, 2016, 24(4): 469-478. DOI: 10.1038/ejhg.2015.99.
- [4] Ethics Committee of American Society for Reproductive Medicine. Use of preimplantation genetic diagnosis for serious adult onset conditions: a committee opinion[J]. Fertil Steril, 2013, 100(1): 54-57. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2013.02.043.
- [5] Simpson JL, Kuliev A, Rechitsky S. Overview of preimplantation genetic diagnosis (PGD): historical perspective and future direction[J]. Methods Mol Biol, 2019, 1885: 23-43. DOI: 10.1007/978-1-4939-8889-1_2.
- [6] Craven L, Tang MX, Gorman GS, et al. Novel reproductive technologies to prevent mitochondrial disease[J]. Hum Reprod Update, 2017, 23(5): 501-519. DOI: 10.1093/humupd/dmx018.

- [7] Smeets HJ, Sallevelt SC, Dreesen JC, et al. Preventing the transmission of mitochondrial DNA disorders using prenatal or preimplantation genetic diagnosis[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2015, 1350: 29-36. DOI: 10.1111/nyas.12866.
- [8] Wang Y, Qin M, Yan Z, et al. A strategy using SNP linkage analysis for monogenic diseases PGD combined with HLA typing[J]. *Clin Genet*, 2020, 98(2): 138-146. DOI: 10.1111/cge.13770.
- [9] Kakourou G, Kahraman S, Ekmecki GC, et al. The clinical utility of PGD with HLA matching: a collaborative multi-centre ESHRE study[J]. *Hum Reprod*, 2018, 33(3): 520-530. DOI: 10.1093/humrep/dex384.
- [10] Verlinsky Y, Rechitsky S, Schoolcraft W, et al. Preimplantation diagnosis for Fanconi anemia combined with HLA matching[J]. *JAMA*, 2001, 285(24): 3130-3133. DOI: 10.1001/jama.285.24.3130.
- [11] Gietel-Habets JJ, de Die-Smulders CE, Derks-Smeets IA, et al. Awareness and attitude regarding reproductive options of persons carrying a BRCA mutation and their partners[J]. *Hum Reprod*, 2017, 32(3): 588-597. DOI: 10.1093/humrep/dew352.
- [12] Derks-Smeets IA, Gietel-Habets JJ, Tibben A, et al. Decision-making on preimplantation genetic diagnosis and prenatal diagnosis: a challenge for couples with hereditary breast and ovarian cancer[J]. *Hum Reprod*, 2014, 29(5): 1103-1112. DOI: 10.1093/humrep/deu034.
- [13] 黄荷凤, 乔杰, 刘嘉茵, 等. 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): 151-155. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1003-9406.2018.02.001. Huang HF, Qiao J, Liu JY, et al. Expert consensus on preimplantation genetic diagnosis/screening[J]. *Chin J Med Genet*, 2018, 35(2): 151-155. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1003-9406.2018.02.001.
- [14] Ethics Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Use of preimplantation genetic testing for monogenic defects (PGT-M) for adult-onset conditions: an Ethics Committee opinion[J]. *Fertil Steril*, 2018, 109(6): 989-992. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2018.04.003.
- [15] Dolan SM, Goldwaser TH, Jindal SK. Preimplantation genetic diagnosis for mendelian conditions[J]. *JAMA*, 2017, 318(9): 859-860. DOI: 10.1001/jama.2017.10892.
- [16] Altarescu G, Beeri R, Eldar-Geva T, et al. PGD for germline mosaicism[J]. *Reprod Biomed Online*, 2012, 25(4): 390-395. DOI: 10.1016/j.rbmo.2012.07.003.
- [17] Osman EK, Werner MD. Mosaic embryos present a challenging clinical decision[J]. *Fertil Steril*, 2019, 111(1): 52-53. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2018.10.032.
- [18] Besser AG, McCulloh DH, Grifo JA. What are patients doing with their mosaic embryos? Decision making after genetic counseling[J]. *Fertil Steril*, 2019, 111(1): 132-137. e1. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2018.10.001.
- [19] van der Schoot V, Dondorp W, Dreesen J, et al. Preimplantation genetic testing for more than one genetic condition: clinical and ethical considerations and dilemmas[J]. *Hum Reprod*, 2019, 34(6): 1146-1154. DOI: 10.1093/humrep/dez059.
- [20] Ovarian Stimulation T, Bosch E, Broer S, et al. ESHRE guideline: ovarian stimulation for IVF/ICSI[J]. *Hum Reprod Open*, 2020, 2020(2): hoaa009. DOI: 10.1093/hropen/hoaa009.
- [21] 乔杰, 马彩虹, 刘嘉茵, 等. 辅助生殖促排卵药物治疗专家共识[J]. *生殖与避孕*, 2015, 35(4): 211-223. DOI: 10.7669/j.issn.0253-357X.2015.04.0211. Qiao J, Ma CH, Liu JY, et al. A consensus of poor ovarian response[J]. *Reprod Contracep*, 2015, 35(4): 211-223. DOI: 10.7669/j.issn.0253-357X.2015.04.0211.
- [22] 孙贇, 刘平, 叶虹, 等. 黄体支持与孕激素补充共识[J]. *生殖与避孕*, 2015, 35(1): 1-8. DOI: 10.7669/j.issn.0253-357X.2015.01.0001. Sun Y, Liu P, Ye H, et al. Luteal phase support with progesterone supplementation consensus[J]. *Reprod Contracep*, 2015, 35(1): 1-8. DOI: 10.7669/j.issn.0253-357X.2015.01.0001.
- [23] Kokkali G, Coticchio G, Bronet F, et al. ESHRE PGT Consortium and SIG Embryology good practice recommendations for polar body and embryo biopsy for PGT[J]. *Hum Reprod Open*, 2020, 2020(3): hoaa020. DOI: 10.1093/hropen/hoaa020.
- [24] Harton GL, De Rycke M, Fiorentino F, et al. ESHRE PGD consortium best practice guidelines for amplification-based PGD[J]. *Hum Reprod*, 2011, 26(1): 33-40. DOI: 10.1093/humrep/deq231.
- [25] 黄锦, 刘平. 胚胎活检时机和方法选择及其对植入前遗传学诊断及筛查结局影响[J]. *中国实用妇科与产科杂志*, 2016, 32(3): 234-237. DOI: CNKI:SUN:ZGSF0.2016-03-009. Huang J, Liu P. Timing and method selection of embryo biopsy and its influence on the outcome of preimplantation genetic diagnosis and screening[J]. *Chin J Pract Gynecol Obstet*, 2016, 32(3): 234-237. DOI: CNKI:SUN:ZGSF0.2016-03-009.
- [26] Fiorentino F, Biricik A, Nuccitelli A, et al. Rapid protocol for pre-conception genetic diagnosis of single gene mutations by first polar body analysis: a possible solution for the Italian patients[J]. *Prenat Diagn*, 2008, 28(1): 62-64. DOI: 10.1002/pd.1905.
- [27] De Vos A, Staessen C, De Rycke M, et al. Impact of cleavage-stage embryo biopsy in view of PGD on human blastocyst implantation: a prospective cohort of single embryo transfers[J]. *Hum Reprod*, 2009, 24(12): 2988-2996. DOI: 10.1093/humrep/dep251.
- [28] Cimadomo D, Capalbo A, Ubaldi FM, et al. The impact of biopsy on human embryo developmental potential during preimplantation genetic diagnosis[J]. *Biomed Res Int*, 2016, 2016: 7193075. DOI: 10.1155/2016/7193075.
- [29] Scott KL, Hong KH, Scott RT. Selecting the optimal time to perform biopsy for preimplantation genetic testing[J]. *Fertil Steril*, 2013, 100(3): 608-614. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2013.07.004.
- [30] 朱小辉, 关硕, 王玉倩, 等. 遗传咨询和预实验结果对胚胎植入前单基因遗传病诊断结局的影响[J]. *中国生育健康杂志*, 2019, 30(1): 26-31. DOI: 10.3969/j.issn.1671-878X.2019.01.006. Zhu XH, Guan S, Wang YQ, et al. Effect of genetic counseling and pre-experiment results on the outcome of preimplantation genetic diagnosis for single gene disease[J]. *Chin J Reprod Health*, 2019, 30(1): 26-31. DOI: 10.3969/j.issn.1671-878X.2019.01.006.
- [31] Zuckerman S, Zeevi DA, Goidin S, et al. Acceptable applications of preimplantation genetic diagnosis (PGD) among Israeli PGD users[J]. *Eur J Hum Genet*, 2017, 25(10): 1113-1117. DOI: 10.1038/ejhg.2017.113.
- [32] Carvalho F, Moutou C, Dimitriadou E, et al. ESHRE PGT Consortium good practice recommendations for the detection of monogenic disorders[J]. *Hum Reprod Open*, 2020, 2020(3): hoaa018. DOI: 10.1093/hropen/hoaa018.
- [33] Ren Y, Zhi X, Zhu X, et al. Clinical applications of MARSALA for preimplantation genetic diagnosis of spinal muscular atrophy[J]. *J Genet Genomics*, 2016, 43(9): 541-547. DOI: 10.1016/j.jgg.2016.03.011.
- [34] Liss J, Chromik I, Szczyglińska J, et al. Current methods for preimplantation genetic diagnosis[J]. *Ginekol Pol*, 2016, 87(7): 522-526. DOI: 10.5603/GP.2016.0037.
- [35] Treff NR, Zimmerman RS. Advances in preimplantation genetic testing for monogenic disease and aneuploidy[J]. *Annu Rev Genomics Hum Genet*, 2017, 18: 189-200. DOI: 10.1146/annurev-genom-091416-035508.
- [36] Vrettou C, Traeger-Synodinos J, Tzetzis M, et al. Real-time PCR for single-cell genotyping in sickle cell and thalassemia syndromes as a rapid, accurate, reliable, and

- widely applicable protocol for preimplantation genetic diagnosis[J]. *Hum Mutat*, 2004, 23(5): 513-521. DOI: 10.1002/humu.20022.
- [37] Huang L, Ma F, Chapman A, et al. Single-cell whole-genome amplification and sequencing: methodology and applications[J]. *Annu Rev Genomics Hum Genet*, 2015, 16: 79-102. DOI: 10.1146/annurev-genom-090413-025352.
- [38] Lee HS, Jun JH, Choi HW, et al. Preimplantation genetic diagnosis for ornithine transcarbamylase deficiency by simultaneous analysis of duplex-nested PCR and fluorescence *in situ* hybridization: a case report[J]. *J Korean Med Sci*, 2007, 22(3): 572-576. DOI: 10.3346/jkms.2007.22.3.572.
- [39] Thornhill AR, Pickering SJ, Whittock NV, et al. Preimplantation genetic diagnosis of compound heterozygous mutations leading to ablation of plakophilin-1 (PKP1) and resulting in skin fragility ectodermal dysplasia syndrome: a case report[J]. *Prenat Diagn*, 2000, 20(13): 1055-1062. DOI: 10.1002/1097-0223(200012)20:13<1055::aid-pd978>3.0.co;2-#.
- [40] Wang CW, Liu YL, Chen CH. Targeting myotonic dystrophy by preimplantation genetic diagnosis-karyomapping[J]. *Taiwan J Obstet Gynecol*, 2019, 58(6): 891-894. DOI: 10.1016/j.tjog.2019.04.002.
- [41] Carvalho F, Sousa M, Fernandes S, et al. Preimplantation genetic diagnosis for familial amyloidotic polyneuropathy (FAP)[J]. *Prenat Diagn*, 2001, 21(12): 1093-1099. DOI: 10.1002/pd.250.
- [42] Swen JJ, van der Straaten T, Wessels JA, et al. Feasibility of pharmacy-initiated pharmacogenetic screening for CYP2D6 and CYP2C19[J]. *Eur J Clin Pharmacol*, 2012, 68(4): 363-370. DOI: 10.1007/s00228-011-1130-4.
- [43] Zimmerman RS, Eccles J, J alas C, et al. Molecular testing for preimplantation genetic diagnosis of single gene disorders[J]. *Methods Mol Biol*, 2019, 1885: 61-71. DOI: 10.1007/978-1-4939-8889-1_4.
- [44] Liao CH, Chang MY, Ma GC, et al. Preimplantation genetic diagnosis of neurodegenerative diseases: review of methodologies and report of our experience as a regional reference laboratory[J]. *Diagnostics (Basel)*, 2019, 9(2): 44. DOI: 10.3390/diagnostics9020044.
- [45] Laurie AD, Hill AM, Harraway JR, et al. Preimplantation genetic diagnosis for hemophilia A using indirect linkage analysis and direct genotyping approaches[J]. *J Thromb Haemost*, 2010, 8(4): 783-789. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2010.03768.x.
- [46] Tan Y, Yin X, Zhang S, et al. Clinical outcome of preimplantation genetic diagnosis and screening using next generation sequencing[J]. *Gigascience*, 2014, 3(1): 30. DOI: 10.1186/2047-217X-3-30.
- [47] Zhou X, Mok SC, Chen Z, et al. Concurrent analysis of loss of heterozygosity (LOH) and copy number abnormality (CNA) for oral premalignancy progression using the Affymetrix 10K SNP mapping array[J]. *Hum Genet*, 2004, 115(4): 327-330. DOI: 10.1007/s00439-004-1163-1.
- [48] Mei R, Galipeau PC, Prass C, et al. Genome-wide detection of allelic imbalance using human SNPs and high-density DNA arrays[J]. *Genome Res*, 2000, 10(8): 1126-1137. DOI: 10.1101/gr.10.8.1126.
- [49] Hubert R, Weber JL, Schmitt K, et al. A new source of polymorphic DNA markers for sperm typing: analysis of microsatellite repeats in single cells[J]. *Am J Hum Genet*, 1992, 51(5): 985-991. DOI: 10.1016/0378-1119(92)90181-N.
- [50] Palmerola KL, Vitez SF, Amrane S, et al. Minimizing mosaicism: assessing the impact of fertilization method on rate of mosaicism after next-generation sequencing (NGS) preimplantation genetic testing for aneuploidy (PGT-A)[J]. *J Assist Reprod Genet*, 2019, 36(1): 153-157. DOI: 10.1007/s10815-018-1347-6.
- [51] Linan A, Lawrenz B, El KI, et al. Clinical reassessment of human embryo ploidy status between cleavage and blastocyst stage by next generation sequencing[J]. *PLoS One*, 2018, 13(8): e0201652. DOI: 10.1371/journal.pone.0201652.
- [52] Liss J, Pastuszek E, Puksza S, et al. Effect of next-generation sequencing in preimplantation genetic testing on live birth ratio[J]. *Reprod Fertil Dev*, 2018, 30(12): 1720-1727. DOI: 10.1071/RD17428.
- [53] Brunet B, Shen J, Cai L, et al. Preimplantation genetic testing for complex chromosomal rearrangement carriers by next-generation sequencing[J]. *Reprod Biomed Online*, 2018, 37(3): 375-382. DOI: 10.1016/j.rbmo.2018.07.001.
- [54] Viart V, Willems M, Ishmukhametova A, et al. Germline mosaicism is a pitfall in PGD for X-linked disorders. Single sperm typing detects very low frequency paternal gonadal mosaicism in a case of recurrent chondrodysplasia punctata misattributed to a maternal origin[J]. *Prenat Diagn*, 2017, 37(2): 201-205. DOI: 10.1002/pd.4982.
- [55] Claustres M, Kožich V, Dequeker E, et al. Recommendations for reporting results of diagnostic genetic testing (biochemical, cytogenetic and molecular genetic)[J]. *Eur J Hum Genet*, 2014, 22(2): 160-170. DOI: 10.1038/ejhg.2013.125.
- [56] McGowan ML, Burant CJ, Moran R, et al. Patient education and informed consent for preimplantation genetic diagnosis: health literacy for genetics and assisted reproductive technology[J]. *Genet Med*, 2009, 11(9): 640-645. DOI: 10.1097/GIM.0b013e3181ac6b52.
- [57] Michelmann HW, Nayudu P. Cryopreservation of human embryos[J]. *Cell Tissue Bank*, 2006, 7(2): 135-141. DOI: 10.1007/s10561-005-0877-1.
- [58] Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Elements to be considered in obtaining informed consent for ART[J]. *Fertil Steril*, 2004, 82 Suppl 1: S202-203. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2004.05.045.
- [59] 王晓秋, 李大金. 反复胚胎植入失败和流产与子宫内膜免疫因素[J]. *中国实用妇科与产科杂志*, 2020, 36(11): 1036-1040. DOI: 10.19538/j.fk2020110102.
- Wang XQ, Li DJ. Repeated embryo implantation failure, miscarriage and endometrial immune factors[J]. *Chin J Pract Gynecol Obstet*, 2020, 36(11): 1036-1040. DOI: 10.19538/j.fk2020110102.
- [60] 黄荷凤, 徐晨明, 王璐璐. 我国通过植入前胚胎遗传学检测技术阻断罕见遗传病的发展现状[J]. *中国实用妇科与产科杂志*, 2020, 36(1): 10-15. DOI: 10.19538/j.fk2020010102.
- Huang HF, Xu CM, Wang LL. Advances in preimplantation genetic testing to block the rare diseases in China[J]. *Chin J Pract Gynecol Obstet*, 2020, 36(1): 10-15. DOI: 10.19538/j.fk2020010102.
- [61] Schneider F, Maurer C, Friedberg RC. International Organization for Standardization (ISO) 15189[J]. *Ann Lab Med*, 2017, 37(5): 365-370. DOI: 10.3343/alm.2017.37.5.365.
- [62] Burnett D. ISO 15189: 2003--quality management, evaluation and continual improvement[J]. *Clin Chem Lab Med*, 2006, 44(6): 733-739. DOI: 10.1515/CCLM.2006.126.
- [63] Dequeker E, Ramsden S, Grody WW, et al. Quality control in molecular genetic testing[J]. *Nat Rev Genet*, 2001, 2(9): 717-723. DOI: 10.1038/35088588.
- [64] Berwouts S, Morris MA, Dequeker E. Approaches to quality management and accreditation in a genetic testing laboratory[J]. *Eur J Hum Genet*, 2010, 18 Suppl 1: S1-19. DOI: 10.1038/ejhg.2010.104.