

唐氏中孕血清学筛查标本-20 °C 保存 1 年后结果比对与临床可接受性评价

冉健 裴元元 胡亮 温丽娟 魏凤香*

(龙岗区妇幼保健院 中心实验室, 广东 深圳 518172)

【摘要】 目的 研究唐氏血清学筛查标本在-20 °C 条件下保存 1 年的临床可接受性。**方法** 检测-20 °C 冰箱保存 1 年后的中孕期唐氏血清学筛查标本的甲胎蛋白(α -fetoprotein, AFP)、游离人绒毛膜促性腺激素(free β -human chorionic gonadotrophin, β -hCG)、游离雌三醇(unconjugated oestriol, uE3)的浓度, 与原始浓度进行统计学分析, 验证储存条件改变后, 3 种标志物的浓度是否满足标准要求。**结果** 复查结果与原始结果无显著性差异, 临床可以接受。**结论** -20 °C 保存唐氏血清学标本可以代替-80 °C 保存, 复查结果可满足临床要求。

【关键词】 唐氏筛查; 甲胎蛋白; 游离人绒毛膜促性腺激素; 游离雌三醇; 线性回归分析

【中图分类号】 R446.11 **【文献标识码】** A

【Abstract】 Objective To study the clinical acceptability about the samples of serum screening test for the Down's syndromes in pregnancy have been staying in Minus 20 degrees Celsius for one year. **Method** Test again the α -fetoprotein, free β -human chorionic Gonadotrophin and unconjugated oestriol concentration in the specimen of serum screening test for the Down's syndromes in pregnancy have been staying in Minus 20 degrees Celsius for one year. The results of the review were statistically analyzed with the original results, then verify the requirements are met whether or not when the storage conditions were changed. **Results** There was no significant difference between the review results and the original results, which was clinically acceptable. **Conclusions** The review results can meet the clinical requirements when Storage conditions by Minus 20 degrees Celsius to Minus 80 degrees Celsius.

【Key words】 Down's syndrome screening; α -fetoprotein; free β -human chorionic gonadotrophin; unconjugated oestriol; linear regression analysis

本实验室中孕期唐氏血清学筛查是通过检测怀孕 15~20⁺ 周孕妇血清中的甲胎蛋白(α -fetoprotein, AFP)、游离人绒毛膜促性腺激素(free β -human chorionic gonadotrophin, β -hCG)、游离雌三醇(unconjugated oestriol, uE3)这 3 种标志物的浓度为基础, 结合孕妇的年龄、孕周、体重、以及是否患糖尿病、是否吸烟等参数, 评估胎儿罹患 21-三体综合征的风险^[1]。目前评估各筛查实验室产前唐氏血清

学筛查的效果, 主要通过随访基础上通过四格表计算某一阶段唐氏筛查样本的假阳性率和检出率来实现。由于血清学方法本身的局限性, 目前国内外实验室中孕期唐氏筛查的检出率约 60%~70%^[2], 即该方法存在一定的漏检风险。为避免唐氏筛查假阴性导致唐氏儿出生引起的医疗纠纷, 《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》中第 I 部分: 中孕期母血清学产前筛查中, 要求对产前血清学筛查样本在-80 °C 至少保存 1 年, 用于满足临床复查结果的需要。由于-80 °C 医用冰箱存在购买价格昂贵, 使用过程中耗电量大的

特点,为了节省成本,本研究探讨是否可以用 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存唐氏筛查检测后的血清标本,同时达到临床可接受的要求。

1 材料与方法

1.1 材料 收集本实验室2016年5~10月中期唐氏筛查(孕15~20⁺周),21-三体综合征风险评估提示低风险(风险值 $<1/1\ 000$),临界风险($1/270 >$ 风险值 $\geq 1/1\ 000$),高风险(风险值 $\leq 1/270$)的血清标本共60例,放置 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存。检测系统:美国铂金埃尔默公司提供的Perkin Elmer1235全自动时间分辨荧光免疫分析系统。检测试剂:PE配套试剂盒,由芬兰Wallac提供的AFP、free β hCG、uE3检测试剂盒。风险计算软件:Lifecycle4.0。本实验室唐氏血清学筛查项目每年参加卫生部临床检验中心组织的室间质控所有结果均在控。室内质控品由伯乐公司提供,设置低、中、高3个浓度水平,所有批次实验满足质控指标要求。

1.2 统计学方法 以复查的标志物浓度值(y)对原始浓度(x)进行线性回归,获得回归方程。建立

AFP、 β hCG、uE3各自的回归方程: $y = ax + b$ 。以2016、2017年共6次卫生部临床检验中心室间质控公布的共30个样本结果的均值作为因变量(x),可接受的上限为自变量(y_1),可接受的下限为自变量(y_2),建立回归方程。即 $y_1 = a_1 x + b_1$; $y_2 = a_2 x + b_2$ 。a值如果在 a_1 与 a_2 之间,b值在 b_1 与 b_2 之间,说明复查结果满足临床要求^[3]。

应用SPSS19.0统计软件对60例样本AFP、free β -hCG、uE3的原始浓度与复查浓度进行配对t检验,如果 $P > 0.05$,则3种标志物的原始结果与 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存一年后的复查结果之间没有显著性差异。

2 结果

AFP、free β -hCG、uE3标志物复查浓度与原始浓度线性回归方程 $y = ax + b$,可接受上限与均值线性回归方程 $y_1 = a_1 x + b_1$,可接受上限与均值线性回归方程 $y_2 = a_2 x + b_2$ 。AFP、free β -hCG、uE3标志物回归方程系数均满足 $a_2 < a < a_1$, $b_2 < b < b_1$,结果见表1。

表1 3种标志物回归方程

标志物	$y = ax + b$	$y_1 = a_1 x + b_1$	$y_2 = a_2 x + b_2$
AFP	$y = 1.0366x - 0.1961$	$y = 1.2658x + 1.7439$	$y = 0.7343x - 1.7413$
free β -hCG	$y = 1.0095x + 0.0133$	$y = 1.3004x - 0.0124$	$y = 0.6995x + 0.0176$
uE3	$y = 1.0186x + 0.0024$	$y = 1.2985x + 0.0061$	$y = 0.7010x + 0.0006$

AFP、free β -hCG、uE3标志物P值均 >0.05 ,分别为0.068、0.264、0.185,提示复查结果与原始结果之间没有显著性差异。

3 讨论

21-三体综合征又称唐氏综合征或先天愚型,是由于染色体多了一条21号染色体导致的疾病。唐氏儿临床主要表现为严重智力低下,心血管畸形,多发性先天小畸形等,出生后可通过外周血染色体G显带核型分析明确诊断^[4]。中期唐氏血清学筛查是通过检测母体中AFP、 β hCG、uE3这3种标志物的浓度为基准,检测结果的准确性直接影响筛查效果。中期唐氏血清学筛查是通过检测孕妇体内的AFP、

free β -hCG、uE3计算胎儿的患病风险,由于标志物水平的个体差异,方法学局限性,目前唐氏筛查的检出率60%~70%,对于漏检的病例如果临床对唐氏筛查结果提出质疑时,需要将保存的血清样本再次检测。为满足检测结果重现性的要求,各筛查实验室采用 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存样本。本研究希望通过对 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰柜保存的样本放置1年进行重复检测,通过统计分析,验证是否满足结果重现性要求。

孕妇血清中的AFP主要是由胚胎卵黄囊及肝脏分泌的一种单链糖蛋白,分子量约70 000,半衰期约5天。孕妇体内甲胎蛋白随孕周增加,孕20周达到高峰。hCG是胎盘滋养层细胞分泌的一种多肽链糖蛋白,分子量36 700,半衰期24~36 h,free β -

hCG 在怀孕 40~90 天处于高峰,以后逐渐下降。free β -hCG 对温度非常敏感,较高的温度可导致 hCG 亚基分离,造成 free β -hCG 测量值异常增高^[5,6]。uE3 是由胎儿-胎盘单位合成的一类甾体类激素,在孕妇体内半衰期 20~30 分钟,随孕周增加呈上升趋势。

从国家临床检验中心室间质评对中孕期血清学筛查 AFP、 β hCG、uE3 标志物允许上限,允许下限可得出均值 $\pm 30\%$ 为可接受标准,-20℃保存的血清标本如果能满足复查结果在原始结果 $\pm 30\%$ 以内则表明符合临床可接受性的要求^[7,8]。本研究将近 2 年,6 批次的卫生部临检中心室间质评样本共 30 个样本的上限,下限对均值获得回归方程,将获得的回归方程系数作为实验组的对照回归方程。60 个实验样本复查浓度对原始浓度的回归方程均在参考回归方程范围,说明复查浓度对原始浓度的偏差在 $\pm 30\%$ 范围内,满足临床可接受要求。

通过对原始浓度和复查浓度两组数据进行配对 t 检验的结果同样显示,两组数据没有显著性差异,说明 -20℃保存 1 年后的样本复查 AFP、 β hCG、uE3 指标均可以满足临床要求。

参 考 文 献

- [1] 王明泉,庄建良,许荣誉,等.泉州地区 105 例唐氏综合征染色体核型分析[J].中国优生与遗传杂志,2009,17(3):43.
- [2] 沈凤贤,赵丽,吕时铭,等.中孕期唐氏综合征产前筛查的质量管理[J].中华检验医学杂志,2014,37(11):870-875.
- [3] 石文,戴永辉,邱峰,等. CLSI EP9-A3 在血液分析仪比对中的应用[J].临床检验杂志,2016,34(01):67-69.
- [4] 宋萃,朱岷,包黎明,等. 287 例唐氏综合征患儿细胞及分子遗传学分析[J].重庆医科大学学报,2010,35(04):602-604.
- [5] Cowns NJ, Stamatopoulou A, Hellstrom J, et al. PAPP-A and Free β -hCG stability in first trimester serum using PerkinElmer AutoDELFIA and DELFIA Xpress systems[J]. Prenat Diagn, 2010, 30:127-132.
- [6] Cruz J, Cruz G, Minekawa R, et al. Effect of temperature on free beta-human chorionic gonadotropin and pregnancy-associated plasma protein-A concentration [J]. Ultrasound Obstet Gynecol, 2010, 36:141-146.
- [7] 黄妩姣,黄宪章,周强,等.不同检测系统甲胎蛋白测定结果的可比性研究[J].检验医学,2006(04):360-363.
- [8] 张秀明,庄俊华,徐宁,等.不同检测系统血清酶测定结果的偏倚评估与可比性研究[J].中华检验医学杂志,2006(04):346-349.

(收稿日期:2019-01-11)

编辑:宋文颖