

## “中孕期母血清学产前筛查技术标准”解读

朱宝生<sup>1</sup> 边旭明<sup>2\*</sup>

(1. 云南省第一人民医院遗传诊断中心、云南省出生缺陷与遗传病研究重点实验室, 云南 昆明 650032;

2. 中国医学科学院北京协和医院 妇产科, 北京 100730)



朱宝生,男,教授,博士生导师,云南省凤庆县人。1990年硕士研究生毕业于云南大学生物系,1991年到云南省第一人民医院计划生育科从事医学遗传学工作至今。现任云南省第一人民医院遗传诊断中心主任、云南省出生缺陷与遗传病研究重点实验室常务副主任,卫生部全国产前诊断技术专家组成员、云南省中青年学术与技术带头人、云南省医学领军人才、国务院特殊津贴专家,云南省医学会医学遗传学分会主任委员、云南省遗传学会副理事长,昆明理工大学教授、博士生导师,昆明医学院硕士生导师,是国内多家学术期刊的编委和审稿人、国家自然科学基金同行评议专家。

在国内率先建立早孕期一站式产前筛查与诊断服务,在云南省率先开展进行性肌营养不良(DMD)、脊肌萎缩症(SMA)、地中海贫血、脆性X综合征、苯丙酮尿症等遗传病的基因诊断和产前诊断,率先开展新生儿遗传代谢性疾病的筛查、诊断与治疗。先后发表论文60多篇,参加编写《实用产前诊断学》,参加编译《产前诊断》和《妇产科医师行医必读》,参加起草制定《中华人民共和国卫生行业标准:胎儿染色体异常与开放性神经管缺陷的产前筛查和产前诊断技术标准》,曾获得云南省科技进步二等奖1项、三等奖13项。

电子邮箱:bszhu@yahoo.cn

唐氏综合征是最常见的染色体病,在活产婴儿中的发生率 $1/600\sim 1/800$ <sup>[1-5]</sup>。患儿将终生罹患智能发育迟缓、多发畸形、生育障碍等严重的结构和功能缺陷,给家庭和社会带来沉重的负担<sup>[6]</sup>。Merkatz等<sup>[7]</sup>首先发现孕中期孕妇血清甲胎蛋白(AFP)的降低与唐氏综合征妊娠有关,此后又相继发现游离雌三醇( $uE_3$ )降低、人绒毛膜促性腺激素 $\beta$ 亚基( $\beta$ -hCG)升高、妊娠相关血浆蛋白A(PAPP-A)降低、抑制素A(inhibin-A)升高均与唐氏综合征妊娠相关<sup>[8-13]</sup>,从此开始了利用血清标记物筛查唐氏综合征的研究。现已证明<sup>[14-19]</sup>,利用孕妇血清标记物浓度变化的规律,可以产前筛查出 $60\%\sim 82\%$ 的唐氏综合征,以及大部分的18-三体综合征和开放性神

经管畸形胎儿。在血清标记物测定的基础上再加入超声测量颈部透明带厚度(nuchal translucency, NT),可以筛查出约 $90\%\sim 97\%$ 的唐氏综合征<sup>[20]</sup>。我国于2000年前后在部分大城市尝试引进了中孕期母血清学产前筛查技术<sup>[4,5,21,22]</sup>,从孕15~20周孕妇中筛查出高风险人群进行产前诊断,受到孕妇欢迎。随着卫生部《产前诊断技术管理办法》的实施,产前筛查技术逐步推广到全国<sup>[23]</sup>。

为了进一步规范中孕期母血清学产前筛查与细胞遗传学产前诊断技术服务,由中华人民共和国卫生部卫生行业标准委员会提出,卫生部全国产前诊断技术专家组成员起草,卫生部批准的《中华人民共和国卫生行业标准: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》于2010年12月31号起实施<sup>[24]</sup>。其中第一部分为中孕期母血清学产前筛查,本文将介绍该技术标准的几个重要

基金项目:本文受国家十一五科技支撑计划重大项目(编号:2006BA105A08)和云南省科技计划社会发展项目(编号:2011CA017)资助。

\* 通讯作者:边旭明, E-mail: xumingbian@163.net

环节和指标。

## 1 产前筛查的工作程序和知情同意书

1.1 产前筛查的工作应由经过专门培训的并已经取得产前筛查资质的医疗保健机构和医务人员承担。中孕期产前筛查应在妊娠 15~20<sup>+</sup>周进行,筛查对象应是小于 35 岁且自愿选择产前筛查的孕妇。工作程序包括收集病史、确定孕周、签署知情同意书、采集外周血、测定血清学指标并计算出风险值、发出筛查报告。对筛查结果是高风险孕妇应建议其到遗传咨询或者产前咨询门诊咨询进一步的产前诊断,对同意介入性产前诊断者进行产前诊断;对于已经进行产前筛查或者进行产前诊断的孕妇应随访妊娠结局。

1.2 在产前筛查的知情同意书中,既要肯定筛查的意义,告知孕妇及家属经过筛查干预后出生的婴儿中唐氏综合征的发生率至少降低到 1/1600~1/5000<sup>[4]</sup>,也要说明筛查的局限性,产前筛查只是一种筛查手段,可能有 30%~40%的漏检率。对于拒绝产前筛查的孕妇,一定要有书面建议和门诊病历记录,避免发生“未告知”纠纷。

## 2 产前筛查资料的收集与标本采集

2.1 孕妇资料的填写 孕妇姓名、出生年月、孕龄、体重、民族/种族、末次月经日期、月经周期、孕妇是否吸烟、本次妊娠是否为双胎或多胎、孕妇是否有胰岛素依赖型糖尿病、既往是否有染色体异常或者神经管畸形等异常妊娠史、家族史、本次妊娠是否是体外受精-胚胎移植(IVF-ET)治疗后获得。其中对筛查结果影响最大的几个因素为:①母亲年龄:流行病学调查显示唐氏综合征胎儿发生率随着母亲年龄的增大而增加<sup>[2,3]</sup>。②孕龄:由于孕妇血清中甲胎蛋白(AFP)、游离雌三醇(uE<sub>3</sub>)、人绒毛膜促性腺激素(HCG)水平随孕龄增加而变化,同时怀有唐氏综合征胎儿的孕妇血清中 AFP、uE<sub>3</sub>、HCG 水平也会发生变化,因此,如果孕龄错误,则会导致筛查的风险计算错误<sup>[25]</sup>。用 B 超准确测量孕 8~13 周胎儿顶

臀长或者孕 14~20 周胎儿双顶径来推算孕龄相对可靠。③母亲体重:母体血清标记物 AFP、uE<sub>3</sub>、HCG 是由胎儿和胎盘产生,并经胎盘而部分进入母血。当母亲体重过重,相应的血容量增大时,进入母血的血清标记物将被稀释,需要依据孕妇体重对中位数倍数进行校正<sup>[26,27]</sup>。④胰岛素依赖型糖尿病(IDDM):如果孕妇本次妊娠合并糖尿病,其 AFP 水平和 uE<sub>3</sub> 水平可能低于正常值,需要对此类孕妇的血清 AFP 和 uE<sub>3</sub> 值进行校正<sup>[28]</sup>。⑤多胎妊娠:双胎或者多胎妊娠时,孕妇血中各项指标明显高于单胎,应用于初筛的临界值一般按胎儿数加倍计算<sup>[29,30]</sup>。⑥孕妇吸烟:有吸烟史的孕妇,中孕期血清 hCG 水平比不吸烟孕妇低 18%;free β-hCG 低 6%;AFP 高 3%;uE<sub>3</sub> 低 4%<sup>[31]</sup>。⑦试管婴儿:如本次妊娠为 IVF-ET 所得,孕妇需提供胚胎植入日期,若为供卵需提供供卵者年龄,才可准确计算孕龄。

2.2 标本的采集 采血护士首先要核对筛查申请单姓名和孕妇,做到“人单对应”,检查是否已经填写知情同意书。采集空腹血制备的血清质量较好。采血后采血管要标明孕妇姓名、标本号、采血日期。采集静脉血 2~3ml,不抗凝,采血管静置室温(18~25℃)30 分钟左右,待血液自然凝固后,2000 rpm 离心 5~10 分钟分离血清,若温水浴促凝,水温不得超过 37℃、半小时。用吸管或倾倒血清入保存管内,血清管外贴上标本标签,置冰箱内保存。样本检测前标本的存放要求:2~8℃保存时间不得超过 7 天,-20℃以下可保存 2 月,应避免反复冻融。样本检测后,-70℃以下保存不少于 2 年。储存的标本有完整的档案,记录标本储存的位置,包括冰箱编号、保存架编号、盒子编号与盒中的位子保存。

## 3 实验室检测

3.1 产前筛查实验室设置的要求 实验室设置符合 WS/T 250 的设置要求,产前筛查实验属于定量检测,承担实验的技术人员需要至少 3 个月的专科进修或者上岗培训合格;实验用设备、试剂、风险计算软件需要得到国家食品与药品监督管理局(SF-

DA)的批准;实验室内或医院其他部门具有筛查孕妇的随访措施,并有每年的抽样随访。

3.2 中孕期可采用的产前筛查方案 ①二联筛查:测定的血清标记物是 AFP 和 Free  $\beta$ -HCG; ②三联筛查:测定 AFP+Free  $\beta$ -HCG+uE<sub>3</sub> 或者 AFP+ $\beta$ -HCG+uE<sub>3</sub>; ③四联筛查:测定 AFP+Free  $\beta$ -HCG+uE<sub>3</sub>+抑制素 A(Inh-A)或者 AFP+ $\beta$ -HCG+uE<sub>3</sub>+Inh-A。

筛查标志物单独应用时,大都存在着检出率低,假阳性率高,有各自敏感的检测时间等缺陷。国内外均推荐采用2项以上血清指标联合筛查<sup>[4,5,11-19]</sup>,以求获得更高的检出率和更低的假阴性率。

产前筛查实验室应将检测到的血清标记物浓度转化为相应孕周的中位数倍数(multiple of median, MoM),计算风险时应结合孕妇的年龄、孕周、体重等资料,使用专门的风险计算软件分别计算胎儿罹患唐氏综合征、18-三体综合征和开放性神经管缺陷(open neural tube defects, ONTD)的风险。以风险率表示唐氏综合征和18-三体综合征的筛查结果,以定性结果表示开放性神经管缺陷的筛查结果。

建议使用的风险截断值分别为:唐氏综合征 1/270;18-三体综合征 1/350;开放性神经管缺陷:AFP $\geq$ 2.5 MoM。服务机构具体使用多大的风险截断值,可根据本机构产前筛查实验室的实际情况调整,以期达到所用筛查方案的检出率和假阳性率的质量标准。

3.3 产前筛查实验室的质量控制措施 进行血清标记物测定的每次实验应进行室内质控,即根据相应试剂盒的要求做标准曲线或校准标准曲线,进行质控品测定,以评估该批次实验测试的可靠性。

实验室每年应参加1~2次卫生部指定机构的室间质评计划,并取得合格证书。连续3年不参加或者未取得室间质评合格证书的产前筛查实验室将被视为质量控制不合格。

3.4 实验室技术的精密度要求 临床实验室检测的精密度直接关系到检验结果的质量水平<sup>[32]</sup>。血

清标记物检测的精密度对产前筛查风险计算的影响较大。以 AFP 为例,在 LifeCycle 3.0 风险评估软件中,1名孕18周孕妇当血清 AFP 浓度的测定值误差为-5%时,则所计算出来的唐氏综合征风险值将升高8.7%,这样会使筛查产生过多的假阳性率;反之,当血清 AFP 浓度的测定值误差为+5%时,则所计算出来的唐氏综合征风险值将降低5.7%,这样就会增加漏筛(假阴性)的风险。因此,参考国外的相关技术标准和指南<sup>[33,34]</sup>,本标准设定了所用实验室技术对血清标记物的检测精密度标准为:变异系数批内 CV% $<$ 3%,批间 CV% $<$ 5%。这一要求明显高于对普通临床实验室的精密度要求,能够得到检出率较高的筛查质量,使得产前筛查技术服务有最好的卫生经济学费效比。

3.5 对不同筛查方案应达到的检出率要求 参照国内外已经完成的研究报道<sup>[4,5,15-19]</sup>而提出目前技术在不同筛查方案中应达到的检出率:

① 二联法:对唐氏综合征的检出率 $\geq$ 60%,假阳性率 $<$ 8%;对18-三体综合征的检出率 $\geq$ 80%,假阳性率 $<$ 5%;对开放性神经管缺陷(ONTD)的检出率 $\geq$ 85%,假阳性率 $<$ 5%;

② 三联法:对唐氏综合征的检出率 $\geq$ 70%,假阳性率 $<$ 5%;对18-三体综合征的检出率 $\geq$ 85%,假阳性率 $<$ 5%;对开放性神经管缺陷(ONTD)的检出率 $\geq$ 85%,假阳性率 $<$ 5%;

③ 四联法:对唐氏综合征的检出率 $\geq$ 80%,假阳性率 $<$ 5%;对18-三体综合征的检出率 $\geq$ 85%,假阳性率 $<$ 1%;对开放性神经管缺陷(ONTD)的检出率 $\geq$ 85%,假阳性率 $<$ 5%。

3.6 对产前筛查阳性预测值的要求 阳性预测值是指在筛查高风险病例中的真阳性率,以百分数表示。一般通过随访筛查高风险病例的产前诊断结果和妊娠结局就可以计算出阳性预测值。本标准中要求唐氏综合征产前筛查的阳性预测值应 $\geq$ 0.5%。

3.7 筛查结果的报告和高危孕妇的处理 筛查结果应该以报告单的形式书面告知,报告单上应有相应注释和提示。筛查报告必须由实验人员和审核

人员共同签字。筛查报告必须在采血或收到标本后7个工作日内发出,以免影响诊断。高风险报告应由专人电话通知,提醒孕妇就诊。对于筛查高风险的孕妇应建议行遗传咨询和产前诊断。如果孕妇具有规定的产前诊断指征(如高龄),应在报告单上建议产前诊断。

高风险孕妇的产前诊断率宜 $\geq 80\%$ ,要求提供产前筛查的机构具有完全承担后续产前诊断服务的能力。若本单位不能提供产前诊断服务,则必须与有产前诊断服务能力的机构签订转诊协议,保证产前诊断高风险的孕妇能够及时得到产前诊断。

对筛查出的高风险病例,在未进行产前诊断之前,不应对孕妇做出终止妊娠的建议。

#### 4 追踪随访

本标准强调对所有筛查对象进行随访,随访率应 $\geq 90\%$ 。随访的形式可采用分娩后产科医生检视新生儿体征、儿童保健医师产后28天家访、医务人员电话访问产后1月到6月婴儿的发育表现。随访内容包括妊娠结局、胎儿或新生儿是否发育正常。对筛查高风险的孕妇,应随访产前诊断结果、妊娠结局。对流产或终止妊娠者,应尽量争取获得组织标本行遗传学诊断,并了解引产胎儿发育情况。产前筛查机构应如实登记随访结果,总结统计分析,评估筛查效果,定期上报省级产前诊断中心。

#### 5 产前筛查的质量审计和持续改进

本标准要求产前筛查机构应定期对所完成的产前筛查进行自查或者外部评估。自查可根据对妊娠结局的随访结果分别计算出产前筛查对唐氏综合征的检出率、假阳性率和阳性预测值<sup>[35]</sup>。通过自查可发现本机构中影响产前筛查质量的主要因素,以便加以解决和持续改进筛查质量。

#### 参 考 文 献

[1] 左启华. 智力发育迟缓的遗传学[M]. 实用优生学(第二版). 北京:人民卫生出版社,1998:529.

- [2] Hook EB. Rates of chromosome abnormalities at different maternal ages[J]. *Obstet Gynecol*,1981,58(3): 282-285.
- [3] Hook EB, Cross PK, Regal RR. The frequency of 47,+21, 47,+18, and 47,+13 at the uppermost extremes of maternal ages: results on 56,094 fetuses studied prenatally and comparisons with data on livebirths[J]. *Hum Genet*,1984,68(3): 211-220.
- [4] 朱宝生,焦存仙,朱姝,等. 唐氏综合征发生率及其受产前筛查干预的研究[J]. *中华妇幼临床医学杂志*,2005,1(1),20-23.
- [5] 边旭明,刘俊涛,戚庆伟,等. 对孕中期妇女行血清学三联指标筛查胎儿唐氏综合征的多中心前瞻性研究[J]. *中华妇产科杂志*,2008,43(11): 805-809.
- [6] 王斌,陈英耀,石琦,等. 我国唐氏综合征的疾病经济负担研究[J]. *中国卫生经济*,2006,25(3): 24-26.
- [7] Merkatz IR, Nitowsky HM, Macri JN, et al. An association between low maternal serum alpha-fetoprotein and fetal chromosomal abnormalities[J]. *Am J Obstet Gynecol*,1984, 148(7): 886-894.
- [8] Cuckle HS, Wald NJ, Lindenbaum RH. Maternal serum alpha-fetoprotein measurement: a screening test for Down syndrome[J]. *Lancet*,1984,1(8383):926-929.
- [9] Canick JA, Knight GJ, Palomaki GE, et al. Low second trimester maternal serum unconjugated oestriol in pregnancies with Down's syndrome[J]. *Br J Obstet. Gynaecol*,1988,95: 330-333.
- [10] Wald NJ, Cuckle HS, Densem JW, et al. Maternal serum unconjugated oestriol as an antenatal screening test for Down's syndrome[J]. *Br J Obstet Gynaecol*,1988,95(4):334-341.
- [11] Heyl PS, Miller W, Canick JA. Maternal serum screening for aneuploid pregnancy by alpha-fetoprotein, hCG, and unconjugated estriol[J]. *Obstet Gynecol*,1990,76(6): 1025-1031.
- [12] Spencer K, Aitken DA, Crossley JA, et al. First trimester biochemical screening for trisomy 21: the role of free beta hCG, alpha fetoprotein and pregnancy associated plasma protein A[J]. *Ann Clin Biochem*,1994,31(Pt 5):447-454.
- [13] Wald NJ, Densem JW, George L, et al. Prenatal screening for Down's syndrome using inhibin-A as a serum marker[J]. *Prenat Diagn*,1996,16(2):143-153.
- [14] Haddow JE, Palomaki GE, Knight GJ, et al. Reducing the need for amniocentesis in women 35 years of age or older with

- serum markers for screening[J]. *N Engl J Med*, 1994, 330: 1114-1118.
- [15] Wald NJ, Watt HC, Hackshaw AK. Integrated screening for Down's syndrome based on tests performed during the first and second trimesters[J]. *N Engl J Med*, 1999, 341(7): 461-467.
- [16] Wapner R, Thom E, Simpson JL, et al. First Trimester Maternal Serum Biochemistry and Fetal Nuchal Translucency Screening (BUN) Study Group. First-trimester screening for trisomies 21 and 18[J]. *N Engl J Med*, 2003, 349(15): 1405-1413.
- [17] Malone FD, Canick JA, Ball RH, et al. First-trimester or second-trimester screening, or both, for Down's syndrome [J]. *N Engl J Med*, 2005, 353(19): 2001-2011.
- [18] Ball RH, Caughey AB, Malone FD, et al. First and Second Trimester Evaluation of Risk (FASTER) Research Consortium. First- and second-trimester evaluation of risk for Down syndrome[J]. *Obstetrics & Gynecology*, 2007, 110(1): 10-17.
- [19] Wald NJ, Rodeck C, Hackshaw AK, et al. SURUSS in perspective[J]. *Br J Obstet Gynaecol*, 2004, 111(6): 521-531.
- [20] Snijders RJM, Noble P, Sebire N, et al. UK multicenter project on assessment of risk of trisomy 21 by maternal age and fetal nuchal-translucency thickness at 10 - 14 weeks of gestation[J]. *Lancet*, 1998, 352: 343-346.
- [21] 廖世秀, 王应太, 叶国玲, 等. 甲胎蛋白、游离雌三醇及绒毛膜促性腺激素测定在产前诊断唐氏综合征中的应用[J]. *中华妇产科杂志*, 1997, 32(11): 655-658.
- [22] 刘俊涛, 郝娜, 孙念恬, 等. 母血清生化二联、三联标记物筛查胎儿唐氏综合征[J]. *中国医学科学院学报*, 2003, 25(2): 156-159.
- [23] 中华人民共和国卫生部. 中华人民共和国卫生部令, 第 33 号: 产前诊断技术管理办法. 2002.
- [24] 中华人民共和国卫生部. 中华人民共和国卫生部通告[2010] 17 号: 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. 2010.
- [25] James P Neilson, Zarko Alfirevic. Optimising prenatal diagnosis of Down's syndrome[J]. *BMJ*, 2006, 332: 433-434.
- [26] Wenstrom KD, Owen J, Boots L, et al. The influence of maternal weight on human chorionic gonadotropin in the multiple-marker screening test for fetal Down syndrome[J]. *Am J Obstet Gynecol*, 1995, 173(4): 1297-1300.
- [27] Hsu JJ, Hsieh TT, Soong YK. The Influence of Maternal Weight Correction Formulas in Asian Down Syndrome Screening Using alpha-Fetoprotein and Free beta-Human Chorionic Gonadotropin[J]. *J Matern Fetal Investig*, 1998, 8(2): 66-70.
- [28] Huttly W, Rudnicka A, Wald NJ. Second-trimester prenatal screening markers for Down syndrome in women with insulin-dependent diabetes mellitus[J]. *Prenat Diagn*, 2004, 24(10): 804-807.
- [29] Wald NJ, Densem JW. Maternal serum free alpha-human chorionic gonadotrophin levels in twin pregnancies: implications for screening for Down's syndrome[J]. *Prenat Diagn*, 1994, 14(8): 717-719.
- [30] Groutz A, Amit A, Yaron Y, et al. Second-trimester maternal serum alpha-fetoprotein, human chorionic gonadotropin, and unconjugated oestriol after early transvaginal multifetal pregnancy reduction[J]. *Prenat Diagn*, 1996, 16(8): 723-727.
- [31] Palomaki GE, Knight GJ, Haddow JE, et al. Cigarette smoking and levels of maternal serum alpha-fetoprotein, unconjugated estriol, and hCG: impact on Down syndrome screening[J]. *Obstet Gynecol*, 1993, 81(5(Pt 1)): 675-678.
- [32] 王治国, 李小鹏, 武平原. 临床实验室精密度性能的评估[J]. *检验医学*, 2004, 19: 455-456.
- [33] Summers AM, Langlois S, Wyatt P, et al. Society of Obstetricians and Gynaecologists of Canada. Prenatal screening for fetal aneuploidy[J]. *J Obstet Gynaecol Can*, 2007, 29(2): 146-179.
- [34] Palomaki GE, Bradley LA, McDowell GA; Down Syndrome Working Group, ACMG Laboratory Quality Assurance Committee; Technical Standards and Guidelines; Prenatal Screening for Down Syndrome. In: AMERICAN COLLEGE OF MEDICAL GENETICS; Standards and Guidelines for Clinical Genetics Laboratories, 2006 Edition.
- [35] Wald NJ, Rodeck C, Hackshaw AK, et al. SURUSS Research Group. First and second trimester antenatal screening for Down's syndrome: the results of the Serum, Urine and Ultrasound Screening Study (SURUSS) [J]. *Health Technol Assess*, 2003, 7(11): 1-77.