

· 临床检验研究论著 ·

# 多指标联合采用时间分辨荧光免疫技术快速筛查唐氏综合征的探讨

余鹏春, 蒲晓允<sup>△</sup>, 游义琴, 苏 鹏

(第三军医大学新桥医院检验科, 重庆 400037)

**摘要:**目的 探讨时间分辨荧光免疫检测技术快速筛查唐氏综合征的血清多指标联合检测方案。方法 收集 25 680 例妊娠妇女孕中期血清标本,应用 DELFIA 分别进行甲胎蛋白(AFP)、游离  $\beta$ -人绒毛膜促性腺激素(F- $\beta$ -HCG)和游离雌三醇(uE3)的二联和三联定量检测,当血清中 AFP、F-HCG 筛查风险系数大于或等于 1/270 时,定为唐氏综合征高危妊娠(或筛查阳性)。结果 (1)25 680 例妊娠妇女中,二联检测出唐氏综合征高危孕妇 1 306 例,阳性率为 5.10%;三联检测出唐氏综合征高危孕妇 1 562 例,阳性率为 6.10%,两者差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。(2)在筛查的 1 895 例高风险患者中,发现有 3 例二联检测评估为唐氏综合征低风险者,其三联检测评估为唐氏综合征高风险。经羊水穿刺细胞染色体检查,均确诊为唐氏综合征。结论 孕中期血清 AFP、F- $\beta$ -HCG 和 uE3 的三联检测,对唐氏综合征的筛查更为准确,在减少筛查假阳性率的同时,此 3 项标志物联合筛查可提高唐氏综合征筛查的敏感度和特异度。

**关键词:**唐氏综合征; 产前筛查; 产前诊断; 时间分辨荧光免疫分析

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2013.06.010

**文献标识码:**A

**文章编号:**1673-4130(2013)06-0660-02

## Multiple indicators combined detection using time resolved fluorescence immunoassay for rapid screening for Down's syndrome

Yu Juanchun, Pu Xiaoyun<sup>△</sup>, You Yiqin, Su Peng

(Department of Clinical Laboratory, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400037, China)

**Abstract:** **Objective** To investigate the time-resolved fluorescence immunoassay for rapid screening for Down's syndrome serum multiple combined detection scheme. **Methods** 25 680 cases of pregnant women in the second trimester serum samples, application of DELFIA were AFP, free of  $\beta$ -HCG and free three female alcohol uE3 two and triple quantitative detection of serum AFP, HCG, when screening for risk coefficient is greater than or equal to 1/270, for Down's syndrome in high risk pregnancy women (or screening positive). **Results** (1) In 25 680 pregnant women during pregnancy, two joint detection of Down syndrome in 1 306 cases of high risk pregnant women, the positive rate was 5.10%; triple detect Down syndrome high risk pregnant women in 1 562 cases, the positive rate was 6.10%. SPSS 13.0 statistical software was used for statistical analysis, using a group t test statistical method, the two kinds of combination detection evaluation have significant difference ( $P < 0.05$ ). (2) In the screening of 1 895 patients with high risk, found that 3 cases of two joint detection evaluated to be low risk, but the triple assessment to be high risk. The amniotic fluid puncture cell chromosome examination, diagnosed as 21- trisomy syndrome. **Conclusion** Prove second trimester serum AFP, F- $\beta$ -HCG and free three female alcohol uE3 triple detection, on Down syndrome screening is more accurate, for reducing the rate of false positive screening at the same time, the 3 markers screening improve the Down's syndrome screening sensitivity and specificity.

**Key words:** Down syndrome; prenatal screening; prenatal diagnosis; time-resolved fluorescence immunoassay

唐氏综合征即 21-三体综合征,是最为常见的染色体病之一,是最常见的常染色体畸形,35 岁以上孕妇发生率为 1/300,35 岁以下为 1/800<sup>[1]</sup>。进行必要的产前筛查,才能降低发病率,达到优生的目的。本文通过时间分辨荧光免疫检测技术对孕妇的孕中期血清甲胎蛋白(AFP)、游离  $\beta$ -人绒毛膜促性腺激素(F- $\beta$ -HCG)和游离雌三醇(uE3)进行二联和三联检测,旨在探讨灵敏、简便的唐氏综合征产前诊断的血清多指标联合检测方案。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 2011 年 7 月至 2012 年 7 月在本院产科门诊就诊并同意接受唐氏综合征产前筛查的 14~20 周的孕妇 25 680 名(其中单胎 25 615 名,双胎 65 名)。胎龄为 14~20 周,年龄 20~42 岁。其中年龄大于或等于 35 岁 1 409 名,占 5.51%;小于 35 岁 24 206 名,占 94.49%。所有筛查对象的妊娠周龄全部以 B 超检查胎儿双顶骨间径(BPD)为准。记录孕

妇的年龄、孕周、体质量、孕产史、是否有高血压及糖尿病史等相关资料,以及联系方式,便于以后随访。

### 1.2 方法

**1.2.1 AFP、F- $\beta$ -HCG 和 uE3 的检测** 抽取孕妇静脉血 2 mL(空腹),离心后,取血清,每天集中测定 1 次。检测指标:中孕期(14~20 周)孕妇血清中 AFP、F- $\beta$ -HCG 和 uE3。测定采用时间分辨荧光免疫检测技术,测量仪器为上海新波生物技术有限公司 ANYTEST 型,判读软件由珠海艾博罗技术有限公司提供,各试剂均购自美国 PE 公司。操作步骤严格按试剂盒说明书进行。

**1.2.2 判断标准** 二联检测:血清中 AFP、HCG 筛查风险系数大于或等于 1/270 时,定为唐氏综合征高危妊娠(或筛查阳性);AFP 中位数倍数 MOM 值小于  $< 0.5$ , F- $\beta$ -HCG  $> 2.5$ ,疑为唐氏综合征高危<sup>[2]</sup>。三联检测:血清中 AFP、F- $\beta$ -HCG、uE3,通过珠海艾博罗技术有限公司产前筛查管理系统算出 21-

三体的风险值,管理系统将 21-三体高风险截断值定为 1 : 270; 另,年龄在 35 岁以上和曾生育唐氏综合征患儿史的孕妇均为唐氏综合征高风险患者,并要求做羊水细胞染色体核型分析。

**1.2.3 羊水细胞染色体核型分析** 使用的材料包括 CO<sub>2</sub> 培养箱(美国 FORMA),羊水细胞培养基(美国 GIBCO 公司提供),秋水仙素(浓度为 100 U/mL),低渗液为 1% 的柠檬酸三钠,固定液为体积比为 3 : 1 的甲醇和冰乙酸混合液。操作步骤严格按照试剂盒说明书进行。在油镜下至少分析 20 个分散好的中期分裂相,嵌合体至少要分析 50 个分裂相,同时画 2~3 个带纹清晰的染色体核型图,对于易位、倒位、长臂末端缺失和小 Y 等特殊情形,必要时做家系调查及亲属染色体分析,以免正常胎儿被流产。

**1.3 统计学处理** 使用 SPSS13.0 统计软件进行统计分析,采用成组 *t* 检验进行组间比较,以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结 果

**2.1 筛查阳性情况** 见表 1,结果显示,本组 35 岁以上的高龄孕妇唐氏综合征阳性检出率高,其中 35~39 岁的阳性例数三联和二联分别为 251、243 例,占 19.2% 和 18.59%; ≥40 岁

的阳性例数三联和二联分别为 39、42 例,占 38.2% 和 41.18%;参与筛查的小于 30 岁阳性例数三联和二联分别为 853、696 例。无论二联还是三联检测,怀孕年龄(EDD)越大,筛查阳性率越高。

表 1 二联和三联检测各年龄组唐氏征筛查阳性分布情况.

EDD	年龄构成	阳性例数	筛查阳性率
	[ <i>n</i> (%)]	(三联/二联, <i>n</i> )	(三联/二联,%)
<25	1 768 (6.9)	52/51	2.94/2.88
25~<30	19 560 (76.4)	801/645	4.10/3.30
30~<35	2 878 (11.2)	419/325	14.56/11.29
35~<40	1 307 (5.1)	251/243	19.20/18.59
≥40	102 (0.4)	39/42	38.20/41.18
总计	25 615 (100)	1 562/1306	6.10/5.10*

\* : *P* < 0.05, 与三联比较。

**2.2 风险评估** 在筛查的 1 895 例高风险患者中,发现有 3 例二联检测评估为唐氏综合征低风险者,其三联检测评估为唐氏综合征高风险,见表 2。

表 2 3 例二联和三联检测筛查出唐氏综合征风险评估不同的孕妇血清 MOM 值和风险率

编号	年龄(岁)	孕周(周+天)	体质量(kg)	MOM			风险率		核型
				AFP	F-β-HCG	uE3	三联	二联	
1	30	15+1	46	0.82	1.99	0.35	1/258	1/409	47,XY+21
2	32	17+2	45	1.39	2.52	0.48	1/250	1/397	47,XY+21
3	36	14+5	49	1.01	1.58	0.59	1/269	1/376	47,XX+21

**2.3 羊水细胞染色体核型情况** 按三联筛查出唐氏征高危的孕妇自愿原则,其中接受羊水穿刺细胞学检查 1 582 例,正常核型 1 521 例,异常核型 61 例,阳性率 3.86% (61/1 582),其中 21-三体综合征 20 例。

## 3 讨 论

发达国家大面积筛查结果表明:约有 80% 唐氏综合征患儿出生于 35 岁以下的妇女<sup>[3]</sup>。随着高龄孕妇人数的不断增加和产前筛查手段的不断进步,仅仅根据孕妇年龄对其进行介入性产前诊断的策略受到质疑<sup>[4-7]</sup>。2001 年美国妇产科医师协会(ACOG)建议对 35 岁以下的孕妇行产前筛查,对 35 岁以上的高龄孕妇以及筛查阳性的高龄孕妇进行介入性产前诊断<sup>[8]</sup>。但在 2007 年 ACOG 则指出应对所有孕妇进行产前筛查,无论孕妇年龄大小<sup>[9]</sup>。本研究发现,无论产妇产龄大小都有生育唐氏综合征胎儿的可能,只是风险性随年龄增长而大幅增加。从预防角度看,能在孕期诊断出患病的胎儿,就可能防止唐氏综合征胎儿出生,对中国人口的优生优育具有非常重要的意义。

许多学者发现孕妇 AFP、F-β-HCG 指标异常与唐氏综合征密切相关,并将之用于产前筛查。孕中期开展唐氏综合征和神经管缺陷筛查有着重要的意义<sup>[10]</sup>。笔者通过时间分辨荧光免疫检测技术对孕妇的孕中期血清 AFP、F-β-HCG 和游离雌三醇 uE3 进行二联和三联检测,筛查 25 615 例单胎孕中期孕妇发现,二联检测出高风险患者 1 586 例,阳性率 6.19%,其中唐氏综合征阳性 1 306 例,阳性率 5.10%,两种组合检测的差异有统计学意义(*P* < 0.05)。其中 3 例二联检测出唐氏征低风险,而三联检测出唐氏征高风险者,经羊水穿刺细胞染色体

检查,确诊均为唐氏综合征;证明孕中期血清 AFP、F-β-HCG 和 uE3 的三联检测,对唐氏综合征的筛查具有更确切的意义,在减少筛查假阳性率的同时,此 3 项标志物联合筛查可提高唐氏综合征筛查的敏感度和特异度<sup>[11-12]</sup>。

## 参考文献

- [1] Mathew BC, Biju RS, Thapalia N. An overview of electrochemiluminescent (ECL) technology in laboratory investigations [J]. Kathmandu Univ Med J (KUMJ), 2005, 3(1): 91-93.
- [2] Shmagel' KV, Chereshev VA. Steroid hormones: their physiological role and diagnostic value during pregnancy [J]. Usp Fiziol Nauk, 2004, 35(3): 61-71.
- [3] Canick JA, Macrae AR. Second trimester serum markers [J]. Semin Perinatol, 2005, 29(4): 203-208.
- [4] Dommergues M, Audibert F, Benattar C, et al. Is routine amniocentesis for advanced maternal age still indicated? [J]. Fetal Diagn Ther, 2001, 16(6): 372-377.
- [5] Benn PA, Egan JF, Fang M, et al. Changes in the utilization of prenatal diagnosis [J]. Obstet Gynecol, 2004, 103(6): 1255-1260.
- [6] Johnson JP, Streets K, Fitzgerald J, et al. Influence of triple-marker screen risk versus a priori risk in decision for amniocentesis in women of advanced maternal age [J]. Prenat Diagn, 1998, 18(9): 979-980.
- [7] Hodges RJ, Wallace EM. Testing for down syndrome in the older Woman: a risky business [J]. Aust N Z J Obstet Gynaecol, 2005, 45(6): 486-488.
- [8] Gynecol O. ACOG Practice Bulletin No. 27: Clinical management guidelines for obstetrician-gynecologists. Prenatal(下转第 663 页)

表 3 对照组与吸烟组、饮酒组、熬夜组、桑拿组及多样组精子正常形态(%)的比较

组别	n	形态(%)	F 值	P
对照组	120	13.72±3.31	—	—
吸烟组	96	11.86±4.50	1.85 *	0.01
饮酒组	112	12.02±4.30	1.69 *	0.01
熬夜组	93	12.32±4.03	1.13	0.05
桑拿组	79	11.96±4.13	1.75 *	0.04
多样组	67	9.44±4.10	18.85 **	0.00

\*: P<0.05 \*\* : P<0.001, 与对照组比较。—: 此项无数据。

### 3 讨论

**3.1 吸烟对精子质量的影响** Wong 等<sup>[4]</sup>研究精浆尼古丁浓度与精子质量有显著相关性。香烟中的有害物质通过吸收进入血循环,经长期累积而致血循环中的有害物质浓度逐渐增高,并干扰睾丸及附睾循环和内环境的物质交换,影响睾丸生精细胞的发育过程,改变了精子在附睾中成熟所必须的生化条件,从而造成了精子数目下降,活动能力的下降<sup>[5]</sup>,形态学异常精子增多<sup>[6]</sup>。本文将吸烟组与对照组比较,对精子前向运动和精子形态影响有统计学差异(P<0.05)。

**3.2 饮酒对精子质量的影响** 本文探讨了饮酒对精子浓度、精子前向运动及精子形态的影响,结果显示精子浓度与精子形态方面明显低于对照组(P<0.05)。饮酒对男性生殖系统具有毒性作用<sup>[7]</sup>,一方面直接作用于睾丸,使生精细胞退化变性,精子发生抑制,并抑制间质细胞合成睾酮<sup>[8]</sup>,另一方面直接或间接作用于下丘脑-垂体轴,来进一步影响睾丸的生精功能<sup>[9]</sup>。

**3.3 熬夜对精子质量的影响** 在对熬夜组进行问卷调查中,有 80%左右的男性都是在晚间熬夜玩电脑游戏,因此熬夜组在精子浓度和精子前向运动方面明显低于对照组(P<0.05),主要由三方面引起的:(1)睡眠不足,长期处于亢奋状态,影响了性激素的分泌;(2)长时间久坐会影响睾丸的血液循环,造成精子营养供应障碍;(3)睾丸是微波辐射、脉冲辐射等电磁辐射敏感的靶器官之一<sup>[10]</sup>,电磁辐射可以引起睾丸结构和功能损伤<sup>[11]</sup>,影响生殖激素水平,造成性功能和生育能力下降。

**3.4 桑拿对精子质量的影响** 本文探讨了桑拿对精子质量的影响,在精子浓度、精子前向运动及精子形态方面均明显低于对照组(P<0.05)。男性睾丸产生精子的最适温度是 35.6~36.0℃,比正常体温低 1.0~1.5℃。桑拿浴,可使阴囊受热,导致精子生成减少,或出现死精子。温度影响精子质量的机制可能为:(1)温热引起精子形态学改变,温热使附睾内精子出现胞质小滴,精子通过附睾的速率加快,成熟减缓;(2)温热引起生殖系统代谢及生化改变使睾丸生精上皮组织破坏,睾丸生精能力下降,使精子在睾丸中大量死亡,睾丸萎缩或体积缩

小<sup>[12]</sup>。

**3.5 多样组对精子质量的影响** 本研究结果显示,多样组在精子浓度、精子前向运动及精子形态方面都极明显低于对照组。这是由于吸烟、饮酒、熬夜及桑拿对男性精子的多重因素造成的,因此,生活习惯是影响精子质量的重要因素。

### 参考文献

- [1] Zhang SC, Wang HY, Wang JD. Analysis of change in sperm quality of Chinese fertile men during 1981-1996[J]. Report Count, 1999, 10(1): 33-39.
- [2] Wu JQ, Liang CL, Gao ES, et al. The canonical correlation analysis on semen quality and serum heavy metals in Chinese young men[J]. Reproduction and Contraception, 2003, 14(2): 119-128.
- [3] 世界卫生组织. 人类精液分析实验室技术手册<sup>[M]</sup>. 5 版. 北京: 人民卫生出版社, 2011: 45-50.
- [4] Wong WY, Thomas CM, Merkus HM, et al. Cigarette smoking and the risk of male factor subfertility: minor association between cotinine in seminal plasma and semen morphology[J]. Fertil Steril, 2000, 74(5): 930-935.
- [5] 何江, 余伍忠, 邹红云, 等. 吸烟对男性精液质量的影响[J]. 中国男科学杂志, 2008, 22(8): 31-33, 37.
- [6] Martini AC, Molina RI, Estofán D, et al. Effects of alcohol and cigarette consumption on human seminal quality[J]. Fertil Steril, 2004, 82(2): 374-377.
- [7] 郭航, 张红国, 薛百功, 等. 吸烟、饮酒和桑拿对精子形态的影响[J]. 中华男科学, 2006, 12(3): 215-217.
- [8] Ouko LA, Shantikumar K, Knezovich J, et al. Effect of alcohol consumption on CpG methylation in the differentially methylated regions of H19 and IG-DMR in male gametes: implications for fetal alcohol spectrum disorders[J]. Alcohol Clin Exp Res, 2009, 33(9): 1615-1627.
- [9] Preedy VR, Adachi J, Peters TJ, et al. Recent advances in the pathology of alcoholic myopathy[J]. Alcohol Clin Exp Res, 2001, 25(5 Suppl ISBRA): 54S-59S.
- [10] Derias EM, Stefanis P, Drakeley A, et al. Growing concern over the safety of using Mobile phones and male fertility[J]. Arch Androl, 2006, 52(1): 9-14.
- [11] Al-Akhras MA, Darmani H, Elbetieha A. Influence of 50 Hz magnetic field on sex hormones and other fertility parameters of adult male rats[J]. Bioelectromagnetics, 2006, 27(2): 127-131.
- [12] Lue YH, Lasley BL, Laughlin LS, et al. Mild testicular hyperthermia induces profound transitional spermatogenic suppression through increased germ cell apoptosis in adult cynomolgus monkeys (Macaca fascicularis)[J]. J Androl, 2002, 23(6): 799-805.

(收稿日期: 2012-12-09)

(上接第 661 页)

diagnosis of fetal chromosomal abnormalities[J]. Abuhamad AZ; ACOG Committee on Practice Bulletins-Obstetrics, 2008, 112(4): 951-961.

- [9] American College of Obstetricians and Gynecologists. ACOG practics bulletin screening for fetal chromosomal abnormalities[J]. Obstet Gynecol, 2001, 97(5 Pt 1): 1-12.

- [10] Murphy VE, Fittock RJ, Zarzycki PK, et al. Metabolism of synthetic steroids by the human placenta[J]. Placenta, 2007, 28(1): 39-46.

- [11] Benn PA, Clive JM. Medians for second trimester maternal serum  $\alpha$ -fetoprotein, human chorionic gonadotropin, and unconjugated estriol, differences between races or ethnic groups[J]. Clin Chem, 1997, 43(2): 333-337.

- [12] Canick JA, Palemaki GE, Osat HR. Prenatal screening for trisomy 18 in the second trimester[J]. Prenat Diagn, 1998, 10(8): 546-548.

(收稿日期: 2012-11-02)