

3.6 统计分析中常见错误是未剔除离群点。离群值,是与标本中大多数数据不一致的观测值,相对于标本假设分布的模型来说是极端的数值,可能不是该模型所产生的,应该排除于模型以外<sup>[5]</sup>。离群点极容易成为未通过点,增加参考区间验证未通过的概率。实验室在完成分析后,对测定数据应首先使用 Dixon 方法剔除离群值,并增加新的参考个体标本,直至获得的 20 例测试结果没有离群值,再行判断是否通过验证<sup>[6]</sup>。

总之,当参考区间验证不通过时,要首先检查回顾,排出各环节控制不当的问题后,再重新选择参考个体进行验证。如果仍不通过,实验室可考虑此参考区间不适合所服务人群,应参考 WS/T 402-2012 自行建立参考区间。

通过本次验证工作,本实验室现行使用的参考区间通过验证,适用于所服务的人群。同时,WS/T 402-2012 所涉及的 18 个项目的参考区间也通过了验证,此验证结果与文献[7-9]的验证结果一致。但本室还缺乏部分项目老年人参考区间的验证以及临床评价,有待后期完成后方可采用。

## 参考文献

- [1] 周大鸣,梅方权. 多重证据法与族源研究——以中国西南族群生物遗传多样性与区域文化研究为例[J]. 中山大学学报(社会科学版), 2003, 43(4): 56-61.
- [2] 李德林,邹萍,邹浪萍,等. 云南傈僳和布依族六个基因座的临床研究 ·

- 遗传多态性分析[J]. 昆明医学院学报, 2002, 23(1): 35-38.
- [3] 叶应妩,王毓三,申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 南京: 东南大学出版社, 2006.
- [4] 尚红,王毓三,申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 4 版. 北京: 人民卫生出版社, 2015: 79-85.
- [5] 王治国. 临床检验生物学变异与参考区间[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2012: 12.
- [6] 王治国,王薇,李娅,等. 临床检验方法确认与性能验证[M]. 人民卫生出版社, 2009: 12.
- [7] 杨俊英. 多项生化项目参考区间验证分析[M]. 国际检验医学杂志, 2015, 36(10): 1435-1436.
- [8] 杨俊英,张萍,侯临平. 钾钠氯生物参考区间验证分析[J]. 山西医药杂志, 2014, 43(1): 95-96.
- [9] 窦会东,李国江. 北京房山区健康人群 6 项生化指标参考区间验证分析[J]. 国际检验医学杂志, 2015, 36(14): 2115-2116.

(收稿日期: 2016-11-12 修回日期: 2017-01-11)



## 胎儿无创染色体非整倍体基因检测应用于产前诊断的临床研究

罗俭权, 赵立忠, 吕镜雄, 李树平, 陈春梅

(广东省四会市人民医院 526200)

**摘要:**目的 研究无创染色体非整倍体基因检测技术(NIPT)在产前诊断中的应用。方法 选择 2014 年 2 月至 2015 年 9 月来该院诊断中心就诊的 360 例孕妇(高龄、唐氏生化筛查中等风险及高风险孕妇),采取高通量大规模平行测序方法行 NIPT 检测。评估 NIPT 对染色体非整倍体检测的特异性与敏感性。结果 360 例 NIPT 检测孕妇中,5 例显示性染色体异常,B 超与核型检查结果均正常。NIPT 检测结果提示 27 例 18-三体、21-三体高风险的孕妇全部经核型确诊。结论 无创染色体非整倍体基因检测技术对 18-三体、21-三体综合征具有较高的特异性、敏感性,值得推广应用。

**关键词:**染色体病; 临床症状; 无创检测技术; 产前诊断

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2017.09.039

**文献标识码:**A

**文章编号:**1673-4130(2017)09-1255-02

染色体病很难彻底治愈,多发的染色体非整倍体疾病有性染色体异常、13-三体综合征、18-三体综合征及唐氏综合征。主要由于双亲生殖细胞减数分裂时染色体分配失衡所致,临床症状表现在器官发育、心脏病及智力等方面<sup>[1]</sup>。截至目前产前诊断染色体病的方法有胎儿部分组织活检、脐血穿刺、染色体核型分析、羊水穿刺及绒毛活检。这些检查稍有不慎可导致流产、宫腔内感染甚至胎死宫内等严重后果,其中染色体核型分析检验周期较长,多数孕妇难以接受。胎儿染色体非整倍体基因无创检测技术(NIPT)是近几年新兴的一种非侵入性检测技术,不仅流程简单,而且安全、可靠<sup>[2-3]</sup>。本研究通过回顾分析本院诊断中心收集的 360 例孕妇资料,旨在探析无创基因检测技术在产前诊断中的应用,现总结报道如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料 研究选择的 360 例对象,均为 2014 年 2 月至

2015 年 9 月本院诊断中心就诊的孕妇。年龄 20~43 岁,平均年龄 27.2 岁,孕周 13~27 周,平均孕周(18±2)周。其中 108 例为高龄孕妇;122 例为唐氏生化筛查高风险;80 例为唐氏生化筛查中等风险。50 例为唐氏生化筛查低风险。主要检测指标为:唐氏生化筛查中等风险(18-三体风险、唐氏风险)孕妇。唐氏生化筛查高风险(18-三体风险  $\geq 1/350$ 、唐氏风险  $\geq 1/270$ )及高龄孕妇(年龄在 35 岁以上)。

**1.2 方法** 孕妇签署知情同意书后,抽取 5 mL 孕妇外周血,然后置于 EDTA 抗凝管中,8 h 内经双重离心法处理,取上清液,再二次离心 10 min,去掉残留细胞。剩余无细胞血浆置于-80 °C 冰箱冻存,冻存完好后 24 h 内送至深圳华大基因研究院检测。采用高通量测序仪(Illumina Hiseq2000)进行检测,获取分布在每条染色体上真实的核酸片段数量,按照生物信息学分析,统计出每条染色体对应的覆盖深度值,确定胎儿患 18-

三体综合征、唐氏综合征的风险率。

**1.3 染色体非整倍体核型确诊方法及妊娠结局随访** NIPT 检测结果为高风险的孕妇,采集其脐血或羊水,并经过细胞培养后,进行 G 显带染色体核型分析确诊。孕妇妊娠结局情况由本院产前诊断中心从分娩医院直接收集。

## 2 结 果

### 2.1 NIPT 检测的 108 例高风险孕妇的妊娠结局及随访结果

50 例唐氏生化筛查低风险孕妇,经 B 超检查,显示胎儿结构异常 9 例,其中先天性心脏病 3 例,唇腭裂 1 例,5 例胼胝体发育不良,行引产术的 6 例中未发现 18-三体或 21-三体综合征。108 例高风险孕妇中,经 B 超确诊与染色体核型检测异常的 65 例均行引产,43 例继续妊娠直至分娩,出生婴儿外观均正常。

**2.2 基因无创检测技术检测染色体非整倍体的特异性、敏感性** 经 NIPT 检测的 3 例 13-三体高风险孕妇,经过核型检测后均排除 13-三体,且经 B 超检查后显示正常。NIPT 检测结果提示 18-三体高风险、21-三体高风险的 27 例孕妇全部经核型确诊,表明 NIPT 检测胎儿染色体非整倍体不但特异性高,且敏感性准确率高。NIPT 检测显示性染色体异常 5 例,B 超与核型检查结果均未发现异常。

**2.3 NIPT 检测高风险孕妇的 B 超及染色体核型检查结果** 共检出 122 例高风险孕妇,其中高龄妊娠 108 例。经唐氏生化筛查检出 80 例中等风险,50 例低风险。

## 3 讨 论

脐静脉穿刺、绒毛活检、羊膜腔穿刺及唐氏生化筛查是临幊上常用的产前诊断方法。其中产前诊断唐氏生化筛查应用较多,但其均为侵入性操作,尤其是染色体核型分析,对孕妇及胎儿均有风险,极易发生感染、流产等,孕妇很难接受<sup>[4-5]</sup>。有研究人员在 1948 年发现人体血浆中存有游离的 DNA,其数量随着孕周的增大而增加,妊娠第 5 周时便可鉴定出胎儿的性别与血型。

随着医学技术的不断发展,NIPT 为无创产前诊断带来了质的飞跃。相对目前临幊其他筛查诊断方法而言,NIPT 检测具有检测周期短、准确率高及安全性高等优点,使得产前诊断综合效益亦得到很大提高<sup>[6]</sup>。无创产前基因检测在性染色体非整倍体的特异性、灵敏度方面检出率高,尤其适用以下人群:(1)孕周数过大,错过羊膜腔穿刺术时机的孕妇;(2)对羊膜腔穿刺禁忌者;(3)血清学筛查临界高风险者。

NIPT 可避免部分唐氏筛查假阳性的孕妇穿刺确诊<sup>[7]</sup>。本研究中,唐氏筛查中等风险孕妇所占比例最高,其次为高风险孕妇。本研究对 108 例高龄产妇与 122 例唐氏筛查高风险的产前诊断对象行 NIPT,显示高风险仅有 32 例,这不仅避免了孕妇不必要的羊水穿刺,减少了产前诊断工作量、提高胎儿染色体异常检出率,而且从一定程度上减轻了孕妇心理、经济负担。

无创产前基因检测开展之前,B 超未查出异常的 21-三体综合征病例极易漏诊,从而假阴性发生率高<sup>[8-9]</sup>。唐氏生化筛查诊断假阴性多发生在筛查中风险区。筛查中等风险组 80 例,2 例被确诊 21-三体综合征,其他异常核型 3 例,检出率 6.2%,此弥补了唐氏生化筛查存在漏诊、假阳性高的不足。

NIPT 对胎儿染色体非整倍体检测准确率高<sup>[10]</sup>。本组研究结果显示 NIPT 对 18-三体与 21-三体综合征检测的敏感性、特异性均为 100%。这与上述文献报道一致。本组研究还发现 NIPT 检测显示 5 例性染色体异常,B 超与核型检查结果均未发现异常。NIPT 检测结果提示 18 三体高风险、21 三体高风险的 27 例孕妇全部经核型确诊。

## 参考文献

- [1] 刘红彦,吴东,李慧,等.孕妇血浆胎儿游离 DNA 检测对胎儿染色体拷贝数异常的诊断意义[J].中华医学遗传学杂志,2012,29(4):435-438.
- [2] 李玉芝,任景慧,林琳华,等.大规模并行基因组测序技术应用于无创产前诊断染色体非整倍体的研究[J].华中科技大学学报(医学版),2012,41(4):475-480.
- [3] 许烨烨,王威,蒋馥蔓,等.无创性产前基因检测胎儿 Turner 综合征 1 例并文献复习[J].中国产前诊断杂志,2012,4(2):42-45.
- [4] 冯穗华,王威,黄泳华,等. Illumina 测序技术在母血检测胎儿非整倍体中应用[J].中国实验诊断学,2012,16(7):1213-1215.
- [5] 赵馨,何天文,尹爱华.第二代测序技术与无创产前诊断[J].分子诊断与治疗杂志,2014,6(3):198-203.
- [6] 葛建民,孙波,赵卫华,等.无创产前基因检测胎儿染色体非整倍体的临床应用研究[J].中国妇幼保健,2014,29(12):1889-1892.
- [7] 钟进,杨兴坤,郭晓玲,等.高通量测序技术在无创性检测胎儿染色体非整倍性中的应用[J].国际遗传学杂志,2015,38(1):18-23.
- [8] 付有晴,娄季武,赵颖,等.胎儿染色体非整倍体无创基因检测试剂盒的临床验证[J].第三军医大学学报,2016,38(1):97-100.
- [9] 韩瑾,张蒙,甄理,等.18-三体综合征胎儿的产前诊断结果分析[J].中华妇幼临床医学杂志,2016,12(2):190-195.
- [10] 王丹,张勇.1 166 例无创产前基因检测结果分析[J].中华医学遗传学杂志,2016,33(3):428-429.

(收稿日期:2017-01-12 修回日期:2017-03-05)