

DOI:10.3969/j.issn.1000-9760.2019.04.010

济宁地区孕中期孕妇血清学筛查指标中位数库的建立*

周洪亮¹ 郭克建¹ 张健¹ 陈晓芳¹ 张华丽² 周旋^{3Δ}

(¹ 济宁市妇幼保健计划生育服务中心, 济宁 272000; ² 济宁医学院山东省出生缺陷研究与转化协同创新中心, 济宁 272067;

³ 济宁医学院精神卫生学院, 山东省行为医学重点实验室, 济宁 272067)

摘要 目的 根据济宁本地区2014—2016年进行产前筛查的孕中期孕妇血清学标志物甲胎蛋白(AFP)、游离β-人绒毛膜促性腺激素(freeβ-HCG)和游离雌三醇(uE3)的中位数与软件内嵌中位数对比,校正并建立本地区的中位数数据库。**方法** 以济宁地区3年154424份孕中期孕妇样本为目标人群,运用时间免疫荧光技术检测3项血清学标志物的浓度,经lifecycle4.0 Rev.4软件计算3年的中位数,与软件内嵌中位数计算方法同时筛查风险进行对比,利用SPSS19.0软件的非参数检验方法比较3年中位数之间的差异,运用 χ^2 检验比较筛查结果。**结果** AFP的中位数2014年与2015年两组比2016年的偏高,差异有统计学意义。freeβ-HCG、uE3的中位数2014—2016年间差异没有统计学意义。济宁地区AFP、freeβ-HCG、uE3的中位数与软件内嵌加索人种中位数进行对比均存在偏差,其中uE3受人种的差异影响更大。经本地区中位数校正的筛查阳性率上升。**结论** 通过济宁地区AFP、freeβ-HCG、uE3 3个软件内嵌中位数进行本地化校正可减低血清筛查出生缺陷的假阳性率。

关键词 血清学筛查;中位数数据库;质量控制

中图分类号:R714.5 文献标识码:A 文章编号:1000-9760(2019)08-267-05

Establishment of median database of serological screening indicators for pregnant women in the second trimester of pregnancy in Jining

ZHOU Hongliang¹, GUO Kejian¹, ZHANG Jian¹, XU Xiaofang¹, ZHANG Huali^{2,3}, ZHOU Xuan^{2Δ}

(¹ Jining Maternal and Child Health Family Planning Service Center, Jining 272000, China;

² Collaborative Innovation Center for Birth Defect Research and Transformation of Shandong Province,

Jining Medical University, Jining 272067, China; ³ Shandong Key Laboratory of Behavioral Medicine,

School of Mental Health, Jining Medical University, Jining 272067, China)

Abstract: Objective According to the median of serological markers AFP, free β-HCG, and uE3 of pregnant women in the second trimester of prenatal screening were conducted in Jining region in 2014-2016. The median was compared with the median in the software to correct and establish the median database in this region. **Methods** To study the prenatal screening of 154424 pregnant women in Jining area, the concentration of three serological markers was detected by time immunofluorescence technique. The median was calculated by lifecycle 4.0 Rev.4 software and compared with the median in the software. The difference of three-year median was compared by SPSS19.0 software non-parametric test method, and the screening results were compared by chi-square test. **Results** The median of AFP in 2014 and 2015 was higher than that in 2016, and the difference was statistically significant. The median values of free beta-HCG and uE3 had no statistical significance between 2014, 2015 and 2016. The median values of AFP, free β-HCG and uE3 in Jining area are different from those of Caucasian population embedded in software, among which uE3 was more affected by the difference of population. The positive rate of screening by median calibration increased in this area. **Conclu-**

* [基金项目] 济宁市科技助推新旧动能转换计划(2017SMNS006); 山东省自然科学基金(ZR2017PH011); 济宁医学院教师科研扶持基金项目(JY2015RW008; JY2017JS002)

Δ [通信作者] 周旋, E-mail: Email: zhoux_86@163.com

sion The median of AFP, free β -HCG and uE3 in Jining area can be corrected to reduce false positive rate and increase true positive rate.

Keywords: Serological screening; Medians database; Quality control

产前筛查是预防控制出生缺陷发生最有效的手段。血清学筛查作为产前筛查中高效便捷的一种方法^[1],是在孕中期(15~19⁺⁶周)测定血清标志物甲胎蛋白(AFP)、游离 β -人绒毛膜促性腺激素(free β -HCG)和游离雌三醇(uE3)的浓度,结合孕妇年龄、体重等资料,运用风险统计软件进行评估,目前这种检测方法因其优良的成本效益在全世界广泛运用。该方法用于唐氏综合征、18-三体综合征、13-三体综合征及开放性神经管缺陷等多种疾病的筛查,筛查高风险的孕妇采取相应的羊膜穿刺、羊水细胞染色体分析、基因芯片等产前筛查手段进一步进行确诊,这也是国内产前筛查工作的主要组成部分。孕中期孕妇血清学筛查的灵敏度和特异性取决于中位数库的建立,通过与分析软件内嵌的高加索人群中位数进行对比计算出 MOM 值进行风险评估^[2]。MOM 值在新规定标准中涉及了时间段、胎龄、孕妇体重、种族亚群等指标^[3],国内很多筛查中心进行研究统计的结果表明,内嵌中位数与本地中位数之间存在偏差,且对筛查结果阳性造成影响^[4-12]。建立本地区的中位数库对于提高疾病检出率、降低假阳性率十分重要。

1 材料与方法

1.1 样本来源

选取 2014 年 1 月至 2016 年 12 月期间在济宁市 2 个市辖区、7 个县、2 个县级市的 48 个采血点进行产前筛查的孕中期正常孕妇 154424 例,采集血清样本。

1.2 方法

1.2.1 仪器和试剂 采用 AutoDELFIA1235 全自动时间分辨免疫荧光仪进行样品的检测,试剂选用 Perkin Elmer 的 AFP/free β -HCG 双标试剂及 uE3 试剂。质控品:杭州宝莱科技公司提供的质控品批号 20131101、20131102、20131103、20141001、20141002、20141003、20151101、20151102、20151103。

1.2.2 样本采集和检测 孕中期孕妇年龄 < 35 岁,孕周 15~19⁺⁶周,月经规则(28~32d)且能提供准确的末次月经时间的孕妇按照末次月经时间计算孕周,月经不规则或不能提供准确的末次月经

时间的孕妇采用近期(2 周内)B 超双顶径长度估算孕周。对参与产前筛查的孕妇进行正常体检,同时在产前筛查申请单上填写孕妇的体重、既往妊娠史、既往病史等相关信息并签署产前筛查知情同意书。采用静脉穿刺术采集孕妇静脉血,分离血清送检,采用时间荧光分辨法测定标本 AFP、free β -HCG、uE3 浓度。

1.2.3 样本分析 标本相关信息资料与标本浓度导入风险软件 Lifecycle4.0 Rev. 4,运用常规定期推算的方法计算中位数进行风险评估,将风险值导入产前筛查信息平台。所有数据运用 SPSS19.0 进行分析。

2 结果

2.1 2014—2016 年间室内质控的均值和变异系数(CV)

AFP、free β -HCG、uE3 最高 CV 分别为 1.59%、2.36%、4.77%,表明 3 年内室内质控良好。见表 1。

2.2 2014—2016 年间 AFP、free β -HCG、uE3 的中位数

AFP 中位数 3 年间存在统计学差异($H = 623.21, P < 0.01$),2014 年与 2015 年差异无统计学意义,均高于 2016 年 AFP($P < 0.01$);free β -HCG 中位数通过观察 2014 年与 2015 年略高于 2016 年,统计分析差异无统计学意义($H = 1.45, P = 0.40$);uE3 中位数 3 年内差异无统计学意义($H = 1.827, P = 0.21$)。见表 2。

2.3 2014—2016 年 AFP、free β -HCG 和 uE3 中位数与软件内嵌中位数比较

受检孕期范围内,AFP 中位数与内嵌中位数偏差相对其他指标较小,偏差 -3.94%~3.17%,free β -HCG 中位数与内嵌中位数相比,偏差 -5.04%~8.47%,uE3 中位数与内嵌中位数相较,偏差相差最大且都为正向偏差,偏差范围在 11.57%~19.51%。通过观察各指标中位数与软件内嵌中位数对比情况,随着孕周的增大,AFP、free β -HCG 偏差情况由正向偏差逐渐降低为负偏差,uE3 中位数相比较也是逐渐呈降低趋势。见表 3。

表 1 2014—2016 年室内质控的均值和 CV 值

标志物批号	AFP			freeβ-HCG			uE3		
	均值	靶值	CV/%	均值	靶值	CV/%	均值	靶值	CV/%
20131101	5.913	5.878	1.59	5.473	5.347	2.29	3.676	3.679	4.47
20131102	42.066	42.248	1.22	26.824	26.853	1.78	11.249	11.117	4.46
20131103	98.396	98.937	1.53	65.313	65.221	1.99	29.409	28.671	3.82
20141001	5.972	5.858	1.57	5.421	5.383	2.18	3.472	3.659	4.40
20141002	42.442	41.874	1.49	27.280	27.004	1.83	11.585	11.221	4.77
20141003	99.965	98.354	1.57	66.391	65.393	2.04	29.916	28.943	3.43
20151101	6.129	6.041	1.51	5.586	5.561	2.36	3.365	3.508	4.46
20151102	42.832	42.673	0.79	27.425	27.728	2.09	11.011	11.218	3.48
20151103	99.686	100.320	0.63	67.299	67.402	2.13	28.971	28.666	3.49

注:AFP、freeβ-HCG、uE3 的 TEa 都为 10%

表 2 2014—2016 年检测血清标志物 AFP、freeβ-HCG、uE3 中位数比较

孕周 (周)	2014 年				2015 年				2016 年			
	n	AFP	freeβ-HCG	uE3	n	AFP	freeβ-HCG	uE3	n	AFP	freeβ-HCG	uE3
15	4676	29.63	18.75	3.40	3783	29.34	18.83	3.39	4669	28.70	17.87	3.43
16	15192	33.59	14.61	4.52	13492	33.13	14.35	4.50	18131	32.44	14.09	4.51
17	17798	38.34	11.53	5.82	15471	37.81	11.47	5.75	18235	36.89	11.27	5.73
18	11525	44.05	9.53	7.24	9172	43.61	9.61	7.10	9446	42.20	9.42	7.05
19	5513	50.95	8.59	8.72	3855	50.83	8.44	8.47	3454	48.55	8.53	8.39

表 3 2014—2016 年 AFP、freeβ-HCG、uE3 中位数与软件内嵌中位数比较

孕周	内嵌 AFP	AFP 偏差/%			内嵌 freeβ-HCG	freeβ-HCG 偏差/%			内嵌 uE3	uE3 偏差/%		
		2014	2015	2016		2014	2015	2016		2014	2015	2016
15	28.72	3.17	2.16	-0.07	17.36	8.01	8.47	2.94	2.87	18.47	18.12	19.51
16	33.08	1.54	0.15	-1.93	13.88	5.26	3.39	1.51	3.82	18.32	17.80	18.06
17	38.10	0.63	-0.76	-3.18	11.52	0.09	-0.43	-2.17	4.93	18.05	16.63	16.23
18	43.88	0.39	-0.62	-3.83	9.92	-3.93	-3.13	-5.04	6.18	17.15	14.89	14.08
19	50.54	0.81	0.57	-3.94	8.77	-2.05	-3.76	-2.74	7.52	15.96	12.63	11.57

2.4 2014—2016 年以不同中位数计算出生缺陷筛查阳性率比较

分别以内嵌中位数、上一年中位数以及当年中位数作为评估筛查阳性率,后两者为本地中位数,其筛查阳性率均高于内嵌中位数所得结果,且本地中位数计算阳性率 4.48%~4.72%,稳定性较好。2014—2016 年同一年 3 种筛查所得结果存在统计学差异。见表 4。

表 4 2014—2016 年以不同中位数计算筛查出生阳性率比较(n/%)

时间	筛查人数 (n)	内嵌中位数		上一年中位数		当年中位数		χ ²
		阳性数	阳性率	阳性数	阳性率	阳性数	阳性率	
2014 年	54704	2104	3.85	2572	4.70	2551	4.66	60.69*
2015 年	45773	1757	3.84	2119	4.63	2049	4.48	39.02*
2016 年	53935	2079	3.85	2546	4.72	2503	4.64	58.66*

注: * P < 0.01

3 讨论

产前筛查是降低出生缺陷的有效方法,在孕中期进行孕妇血清标志物 AFP、freeβ-HCG、uE3 的筛查,该方法与无创产前基因检测、羊水穿刺等其他筛查技术相比具有经济、方便的优点,孕妇易于接受,能够在大范围普及筛查高风险人群^[13]。根据国家卫健委 2018 年《关于印发全国出生缺陷综合防治方案的通知》我国计划到 2022 年产前筛查率达到 70%,因此进一步提高产前筛查诊断的灵敏度和特异度十分重要。产前筛查中通过筛查指标与孕龄相关的中位数数值将指标检测浓度值转化为 MOM 值,以消除孕周对指标浓度的影响。life-cycle4.0 Rev.4 软件内嵌的高加索人种中位数会在检出效率上带来一定的偏差,因此国内多家产筛

机构已陆续着手进行中位数的本地化研究工作^[4-12]。

本文对济宁地区 2014—2016 年 154424 例孕中期孕妇血清标志物筛查,通过标准化的实验流程分析 2014 年至 2016 年质控情况,AFP、free β -HCG 和 uE3 CV 分别小于 1.59%、2.36% 与 4.77%,表明在实验环节的试剂准备、温度控制等方面有良好的质控。在室内质控良好前提下,对比中位数的分析统计才能更加符合本地人群的中位数,具备更佳的区域代表性。

对比济宁本地区中位数和软件内嵌中位数可看出本地中位数在不同的年份是有波动的,且随着孕周的不同需要进行调整。本地中位数与软件内嵌高加索人群中位数进行比较存在偏差,特别是 uE3 指标可以看出因人种差异,偏差较大。国内多项孕中期血清学筛查构建本地区中位数库的研究中,AFP、free β -HCG、uE3 存在不同程度偏差,其中 AFP、free β -HCG 经对比有高于或低于内嵌中位数,多数研究中 uE3 中位数指标要高于内嵌中位数^[8-11],建议按照地区性人群中位数特别是 uE3 指标的中位数对风险计算方程进行调整,以降低出生缺陷漏筛风险,对筛查效率的提升具有积极的作用。在分别以内嵌中位数、上一年中位数、当年中位数进入分析软件计算,对所得的阳性筛查结果进行统计学分析,发现三者之间存在统计学差异。通过观察无论哪种方法以本地区统计的中位数相比软件内嵌中位数进行的筛查阳性率都会有所提高,因此在今后的产前筛查中可以使用本地中位数库进行筛查。经血清学筛查高风险将由各采血点打印报告并通知孕妇取结果、进行遗传咨询或采取进一步检查明确诊断。由于此过程中存在的病人转院或放弃检查等失访情况,会对最终的出生缺陷发病率情况带来偏倚,无法得到精确的以本地中位数库为指标进行的血清学筛查方法的特异度和灵敏度,是此次中位数库建立的缺陷。

在日常实验工作中,在对软件内嵌中位数进行本地化校正时还应注意其他因素对筛查结果的影响。如 free β -HCG 对于温度升高情况较为敏感,尤其夏季,如温度质控不佳,将导致检测值偏高,造成 MOM 值的偏移^[12]。因此,需要对各级采血单位强调采血环节,对样本物流环节强化冷链物流,对实

验室环节重视样本检测前的低温冷藏,以此强化筛查流程中的温度质量控制,确保 free β -HCG 中位数统计分析的本地化准确性不受到部分偏差较大数据的影响。实验仪器的老化同样会对中位数的检测造成误差,可以结合上一年度及当年中位数分析分析室内质控的均值和偏差情况,降低实验误差给风险预测带来的影响。

我们在建立本地化中位数过程中,在数据统计分析此基础上,还应对所得方程进行一定的验证和推算,准确评估中位数调整包括检出率、假阳性率在內的筛查效率的影响。对于因人种差异而造成的中位数显著差异的情况,在排查实验误差的前提下,可通过修改中位数进行人群的校正。对于胎龄、体重等其他因素的校正,以及准确得到真阳性率,需要在今后的研究中进一步探索。

参考文献:

- [1] Haddow JE, Palomaki GE, Knight GJ, et al. Prenatal screening for Down's syndrome with use of maternal serum markers[J]. N Engl J Med, 1992, 327(9): 588-593. DOI: 10.1056/NEJM199208273270902.
- [2] Wald NJ, Cuckle H, Brock JH, et al. Maternal serum-alpha-fetoprotein measurement in antenatal screening for anencephaly and spina bifida in early pregnancy. Report of U. K. collaborative study on alpha-fetoprotein in relation to neural-tube defects[J]. Lancet, 1977, 1(8026): 1323-1332.
- [3] Xu L, Huang H, Zheng L, et al. Optimization of regional median equations of prenatal screening markers for trisomy 21 in a Chinese population[J]. Medicine (Baltimore), 2018, 97(35): e12045. DOI: 10.1097/MD.00000000000012045.
- [4] 梁培松,王结珍,王伟佳,等.广东省中山地区孕中期产前筛查血清标志物中位数方程的建立[J].现代检验医学杂志,2018,33(5):46-48,52. DOI:10.3969/j.issn.1671-7414.2018.05.013.
- [5] 窦琳琳,杨国绘,郭远瑜.孕中期产前筛查标志物中位数修正的探讨[J].中国卫生检验杂志,2017,27(17):2500-2504.
- [6] 郑文吉,陈志央,余颀,等.早孕期唐氏综合征筛查指标中位数本地化的研究[J].中华围产医学杂志,2016,19(10):785-788. DOI:10.3760/cma.j.issn.1007-9408.2016.10.013.

(下转第 278 页)

- sponge *Leiodermatium* sp [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2011, 50 (14) : 3219-3223. DOI: 10. 1002/anie. 201007719.
- [24] Sirirak T, Kittiwisut S, Janma C, et al. Kabiramides J and K, trisoxazole macrolides from the sponge *Pachastrissa nux* [J]. *J Nat Prod*, 2011, 74 (5) : 1288-1292. DOI: 10. 1021/np100886y.
- [25] Shin Y, Kim GD, Jeon JE, et al. Antimetastatic effect of halichondramide, a trisoxazole macrolide from the marine sponge *Chondrosia corticata*, on human prostate cancer cells via modulation of epithelial-to-mesenchymal transition [J]. *Mar Drugs*, 2013, 11 (7) : 2472-2485. DOI: 10. 3390/md11072472.
- [26] Ben-Califa N, Bishara A, Kashman Y, et al. Salarin C, a member of the salarin superfamily of marine compounds, is a potent inducer of apoptosis [J]. *Invest New Drugs*, 2012, 30 (1) : 98-104. DOI: 10. 1007/s10637-010-9521-4.
- [27] Pham CD, Hartmann R, Böhler P, et al. Callyspongiolide, a cytotoxic macrolide from the marine sponge *Callyspongia* sp [J]. *Org Lett*, 2014, 16 (1) : 266-269. DOI: 10. 1021/ol403241v.
- [28] Lorente A, Gil A, Fernández R, et al. Phormidolides B and C, cytotoxic agents from the sea; enantioselective synthesis of the macrocyclic core [J]. *Chemistry*, 2015, 21 (1) : 150-156. DOI: 10. 1002/chem. 201404341.
- [29] Teta R, Irollo E, Della Sala G, et al. Smenamides A and B, chlorinated peptide/polyketide hybrids containing a dolapyrrolidinone unit from the Caribbean sponge *Smenospongia aurea*. Evaluation of their role as leads in antitumor drug research [J]. *Mar Drugs*, 2013, 11 (11) : 4451-4463. DOI: 10. 3390/md11114451.
- [30] An B, Yin FL, de Voogd NJ, et al. Chagosendines A-C, new metal complexes of imidazole alkaloids from the calcareous sponge *leucetta chagosensis* [J]. *Chem Biodivers*, 2018, 15 (2) : DOI: 10. 1002/cbdv. 201700481.
- [31] Liu D, Li Y, Li XD, et al. Chartarolides A-C, novel meroterpenoids with antitumor activities [J]. *Tetrahedron Letters*, 2017, 58 (19) : 1826-1829. DOI: 10. 1016/j. tetlet. 2017. 03. 079.
- [32] to T, Nguyen HM, Win NN, et al. Three new sesquiterpene aminoquinones from a Vietnamese *Spongia* sp. and their biological activities [J]. *J Nat Med*, 2018, 72 (1) : 298-303. DOI: 10. 1007/s11418-017-1130-5.
- [33] 刘娟娟, 李丹阳, 孙正阳, 等. 抗肿瘤多肽研究进展 [J]. *济宁医学院学报*, 2017, 40 (4) : 240-244. DOI: 10. 3969/j. issn. 1000-9760. 2017. 04. 003.

(收稿日期 2018-08-30)

(本文编辑:石俊强)

(上接第 270 页)

- [7] 刘颖, 单庆莲. 长春地区孕中期产前筛查血清标志物中位数的建立及临床应用研究 [J]. *中国妇幼保健*, 2011, 26 (31) : 4826-4827.
- [8] 龙耀, 刘艳秋, 马鹏鹏, 等. 江西省中北部地区孕中期唐氏综合征筛查血清标志物中位数的构建 [J]. *中南大学学报(医学版)*, 2017, 42 (7) : 831-835. DOI: 10. 11817/j. issn. 1672-7347. 2017. 07. 015.
- [9] 汤欣欣, 毛华芬, 许天龙, 等. 连云港地区孕中期产前筛查血清标志物中位数的建立及临床应用研究 [J]. *中国妇幼保健*, 2016, 31 (18) : 3779-3781. DOI: 10. 7620/zgfybj. j. issn. 1001-4411. 2016. 18. 48.
- [10] 苏立, 倪敏, 赵德华, 等. 河南地区孕中期唐氏综合征筛查人群中位数研究 [J]. *中国妇幼保健*, 2016, 31 (8) : 1576-1578. DOI: 10. 7620 /zgfybj. j. issn. 1001-4411. 2016. 08. 03.
- [11] 李华锋, 张艳丽, 杨海林, 等. 临沂地区孕中期产前筛查血清标志物中位数方程的建立及其与体重相关性研究 [J]. *山东医学高等专科学校学报*, 2014, 36 (6) : 401-408. DOI: 10. 3969/j. issn. 1674-0947. 2014. 06. 001.
- [12] 黄芳, 王黎芳, 王昊, 等. 正常孕中期孕妇血清学产前筛查指标中位数数据库的建立 [J]. *医学研究杂志*, 2012, 41 (5) : 55-58. DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-548X. 2012. 05. 018.
- [13] 姚克文, 张会臣, 李静, 等. 孕中期母血清学产前筛查预防出生缺陷研究 [J]. *中国优生与遗传杂志*, 2018, 26 (9) : 91-93. DOI: 10. 13404/j. cnki. cjbh. 2018. 09. 040.

(收稿日期 2019-05-17)

(本文编辑:甘慧敏)