

陕西地区两种无创产前筛查系统 阳性结果的重复性比较分析

石凤蕊,王 瑞,吴秋华,王晓斌,刘 媛,强 荣

(西北妇女儿童医院医学遗传中心,陕西 西安 710061)

[摘要]目的 初步评估陕西地区孕妇外周血胎儿游离 DNA 产前检测(NIPT)与拓展性孕妇外周血胎儿游离 DNA 产前检测(NIPT-plus)两种产前筛查系统应用于目标疾病阳性结果重复性的优劣,为日后两种检测方法的实验室内部质控评价及该项目的临床应用提供检测依据。**方法** 选择 2021 年 10 月至 2022 年 12 月在西北妇女儿童医院医学遗传中心就诊的 77 例 NIPT、95 例 NIPT-plus 产前筛查系统目标疾病阳性结果的孕妇作为研究对象。比较 NIPT 与 NIPT-plus 产前筛查系统应用于目标疾病阳性结果的重复性。**结果** 对 77 例 NIPT 产前筛查系统目标疾病阳性结果进行重复检测,两次检测结果一致为 72 例,重复性一致率为 93.5%;对 95 例 NIPT-plus 产前筛查系统目标疾病阳性结果进行重复检测,两次检测结果一致为 67 例,重复性一致率为 70.5%,两者比较差异有统计学意义($\chi^2=14.485, P<0.001$)。各项 NIPT 产前筛查系统内目标疾病阳性结果重复性一致率比较差异无统计学意义($\chi^2=1.047, P>0.05$)。各项 NIPT-plus 产前筛查系统内目标疾病阳性结果重复性一致率比较差异有统计学意义($\chi^2=39.016, P<0.001$)。**结论** NIPT 与 NIPT-plus 筛查系统对常见染色体三体的筛查阳性结果具有较高的重复性,NIPT-plus 筛查系统对性染色体异常和染色体微缺失/重复综合征(MMS)筛查的重复性为中低水平,推荐 NIPT 与 NIPT-plus 筛查系统作为 13、18、21 号染色体非整倍体的一线筛查方法;需发展测序技术和优化算法模型,提高 NIPT-plus 筛查的重复性,保证结果的可靠性,以减少不必要的有创产前诊断。

[关键词] 产前筛查;孕妇外周血胎儿游离 DNA 产前检测;拓展性孕妇外周血胎儿游离 DNA 产前检测;重复性

Doi:10.3969/j.issn.1673-5293.2024.05.007

[中图分类号] R17

[文献标识码] A

[文章编号] 1673-5293(2024)05-0042-05

Comparison and analysis of the repeatability of positive results in two non-invasive prenatal screening systems in Shaanxi region

SHI Fengrui, WANG Rui, WU Qiuhua, WANG Xiaobin, LIU Yuan, QIANG Rong

(Center of Medical Genetics, Northwest Women's and Children's Hospital, Shaanxi Xi'an 710061, China)

[Abstract] Objective To preliminarily evaluate the repeatability of positive results for target diseases in two non-invasive prenatal screening systems, namely non-invasive prenatal testing (NIPT) and expanded non-invasive prenatal testing (NIPT-plus), in pregnant women in the Shaanxi region. This aims to provide a basis for the internal laboratory quality control evaluation of the two detection methods and the clinical application of this project in the future. **Methods** 77 pregnant women who underwent NIPT and 95 pregnant women who underwent NIPT-plus for target diseases with positive results at the center of medical genetics in Northwest Women's and Children's Hospital from October 2021 to December 2022 were selected as the research subjects. This aim is to compare the repeatability of positive results for target diseases between the NIPT and NIPT-plus systems. **Results** For the 77 cases with positive results for target diseases in the NIPT system, repeated testing yielded consistent results in 72 cases, resulting in a repeatability rate of 93.5%. For the 95 cases with positive results for target diseases in the NIPT-plus system, repeated testing yielded consistent results in 67 cases, resulting in a repeatability rate of 70.5%. The difference was statistically significant between the two when compared ($\chi^2=14.485, P<0.001$). The differences in repeatability rates of positive results for target diseases within the NIPT system were not statistically significant ($\chi^2=1.047, P>0.05$). The differences in repeatability rates of positive results for target diseases within the NIPT-plus system were statistically significant ($\chi^2=39.016, P<0.001$). **Conclusion** The NIPT and

[收稿日期] 2023-09-27

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(82201865)

[作者简介] 石凤蕊(1990—),女,检验技师,主要从事分子诊断的研究。

[通讯作者] 强 荣,主任医师。

NIPT-plus screening systems exhibit high repeatability in detecting positive results for common chromosome trisomies. The repeatability of NIPT-plus screening system is moderate to low in detecting sex chromosome abnormalities and microdeletion/microduplication syndrome (MMS). NIPT and NIPT-plus screening systems are recommended as first-line screening methods for trisomies of chromosomes 13, 18 and 21. Further development of sequencing technology and optimization of algorithm models are necessary to improve the repeatability of NIPT-plus screening and ensure the reliability of results, thereby reducing the need for unnecessary invasive prenatal diagnosis.

[Key words] prenatal screening; non-invasive prenatal testing; expanded non-invasive prenatal testing; repeatability

自孕妇外周血胎儿游离 DNA 产前检测 (non-invasive prenatal testing, NIPT) 进入到产前筛查领域后, 因其对筛查胎儿 13、18、21 三体综合征的准确性, 已在临床应用中得到广泛认可^[1-3]。伴随着高通量测序技术的发展, NIPT 应用范围被扩展到胎儿其他染色体非整倍体及染色体微缺失/重复综合征 (microdeletion/microduplication syndrome, MMS) 的筛查中, 即拓展性 NIPT (expanded non-invasive prenatal testing, NIPT-plus)^[4-7]。然而, NIPT 与 NIPT-plus 产前检测的是孕妇外周血中胎儿游离 DNA 片段, 检测时需要将测序数据进行过滤、筛选和换算等生物学信息处理分析, 因此获得的胎儿 DNA 片段长度和位置变化会有批间或批内变异, NIPT 与 NIPT-plus 产前筛查系统目标疾病阳性结果重复性的评价对于检测实验室内部质量控制具有实际的应用意义。本研究收集了陕西地区 NIPT 与 NIPT-plus 产前筛查系统目标疾病阳性结果的孕妇, 进行重复检测后分析同一样本的两次结果, 评价并分析 NIPT 与 NIPT-plus 产前检测的重复性, 有助于提升检测能力, 为日后两种检测方法的实验室内部质控评价提供一定的参考, 也为该项目的临床应用提供检测依据。

1 研究对象与方法

1.1 研究对象

选择 2021 年 10 月至 2022 年 12 月在西北妇女儿童医院医学遗传中心就诊的 77 例 NIPT、95 例 NIPT-plus 产前筛查系统目标疾病阳性结果的孕妇作为研究对象, 本研究符合《世界医学协会赫尔辛基宣言》。

本研究已通过西北妇女儿童医院医学伦理委员会审批 (20-022)。

1.2 方法

1.2.1 血浆的分离

采用无创专用采血 EDTA 抗凝管, 采集孕妇外周血 10 mL, 4℃ 低温离心机 1 600 g 离心 10 min, 分离上层血浆, 再次常温离心机 16 000 g 离心 10 min, 分离上层血浆至 3 份 1.5 mL 离心管中, 每份血浆 1.3 mL。首次检测取其中一份血浆, 其余的暂时保存在 -20℃ 冰箱。重复检测时取保存的另一份血浆。

1.2.2 NIPT 及 NIPT-plus 的检测

采用磁珠法提取母体血浆游离 DNA (cell-free DNA, cfDNA), 通过对 cfDNA 进行末端修复、补平, 添加测序接头、纯化构建文库, 根据下机分析需要的数据量计算比例混合文库, 使用 NextseqCN500 基因测序仪及配套试剂 (贝瑞和康公司, 中国) 进行高通量测序。下机后 NIPT 检测要求单一样本唯一比对序列数据量 > 1.5 Mb 及 NIPT-plus 检测要求单一样本唯一比对序列数据量 > 10 Mb 为质控合格, 测序序列经过生物学信息分析软件得出生物学信息结果。

1.3 统计学方法

应用 SPSS 26 统计学软件分析数据, 计数资料以例数 (百分率) [n (%)] 表示, 组间比较采用 χ^2 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 NIPT 与 NIPT-plus 产前筛查系统目标疾病阳性结果重复性的对比

对 77 例 NIPT 产前筛查系统目标疾病阳性结果进行重复检测, 两次检测结果一致为 72 例, 重复性一致率为 93.5%; 对 95 例 NIPT-plus 产前筛查系统目标疾病阳性结果进行重复检测, 两次检测结果一致为 67 例, 重复性一致率为 70.5%。NIPT 与 NIPT-plus 产前筛查系统目标疾病阳性结果重复性

一致率比较差异有统计学意义($P<0.001$),见表1。

表1 NIPT与NIPT-plus产前筛查系统目标疾病
阳性结果重复性一致率的比较 [n(%)]

产前筛查系统	总例数(n)	一致	不一致
NIPT	77	72(93.5)	5(6.5)
NIPT-plus	95	67(70.5)	28(29.5)
χ^2		14.485	
P		<0.001	

2.2 NIPT 产前筛查系统内目标疾病阳性结果重复性的对比

对77例NIPT产前筛查系统内目标疾病阳性结果进行重复检测时显示,有15例13三体的两次检测结果一致;有12例18三体的两次检测结果一致,1例为不一致;有45例21三体的两次检测结果一致,4例为不一致。各项NIPT产前筛查系统内目标疾病阳性结果重复性一致率比较差异无统计学意义($P>0.05$),见表2。

表2 NIPT 产前筛查系统内目标疾病阳性
结果重复性一致率的比较 [n(%)]

NIPT 筛查目标疾病	总例数(n)	一致	不一致
13 三体	15	15(100.0)	0
18 三体	13	12(92.3)	1(7.7)
21 三体	49	45(91.8)	4(8.2)
χ^2		1.047	
P		0.657	

2.3 NIPT-plus 产前筛查系统内目标疾病阳性结果重复性的对比

对95例NIPT-plus产前筛查系统内目标疾病阳性结果进行重复检测时显示,11q部分单体综合征;11q部分三体综合征;14三体综合征;16p,q部分三体综合征;20三体综合征;22三体综合征;2p,q部分三体综合征;3p,q部分三体综合征;4p部分单体

综合征;4q部分三体综合征;7q32→qter三体综合征;9p部分三体综合征;9q部分单体综合征;18三体和21三体的两次检测结果均一致。在46例性染色体异常中,有30例的两次检测结果一致;在2例Prader Willi syndrome/Angelman syndrome中,有1例的两次检测结果一致。有1例10q部分三体综合征、9例22q11.2 deletion syndrome、1例7p部分三体综合征+7q21→q31三体综合征+7q32→qter三体综合征的两次检测结果均不一致。各项NIPT-plus产前筛查系统内目标疾病阳性结果重复性一致率比较差异有统计学意义($P<0.001$),见表3。

表3 NIPT-plus 产前筛查系统内目标疾病阳性
结果重复性一致率的比较 [n(%)]

NIPT-plus 筛查目标疾病	总例数(n)	一致	不一致
11q 部分单体综合征	2	2(100.0)	0
11q 部分三体综合征	1	1(100.0)	0
14 三体综合征	1	1(100.0)	0
16p,q 部分三体综合征	1	1(100.0)	0
20 三体综合征	2	2(100.0)	0
22 三体综合征	2	2(100.0)	0
2p,q 部分三体综合征	1	1(100.0)	0
3p,q 部分三体综合征	1	1(100.0)	0
4p 部分单体综合征	1	1(100.0)	0
4q 部分三体综合征	2	2(100.0)	0
7q32→qter 三体综合征	1	1(100.0)	0
9p 部分三体综合征	2	2(100.0)	0
9q 部分单体综合征	1	1(100.0)	0
18 三体	4	4(100.0)	0
21 三体	14	14(100.0)	0
性染色体异常	46	30(65.2)	16(34.8)
Prader Willi syndrome/Angelman syndrome	2	1(50.0)	1(50.0)
10q 部分三体综合征	1	0	1(100.0)
22q11.2 deletion syndrome	9	0	9(100.0)
7p 部分三体综合征+7q21→q31 三体综合征+7q32→qter 三体综合征	1	0	1(100.0)
χ^2		39.016	
P		<0.001	

3 讨论

在临床检验中,实验室内检测结果的重复性是定量分析试验的精密度指标,是指在一系列相同的测定条件下(如:设备、操作者、操作条件、实验室或培养时间)重复测定获得的独立测试结果之间的一致程度^[8]。全面评估仪器和试剂的精密度,可以检测系统的可靠性,保证检测结果准确。但目前对于 NIPT 与 NIPT-plus 产前检测这种定性项目的重复性评价还没有引起足够的重视,相关研究和报道较少。

3.1 NIPT 与 NIPT-plus 产前筛查系统重复性评价的策略

在 NIPT 产前筛查实验室技术专家共识中提到,对系统批内重复性性能验证可以选择 13 三体、18 三体、21 三体阳性样本和阴性样本或商品化阳性质控品进行一定次数(≥ 2 次)的重复检测来实现^[9]。同时,在筛查致病性拷贝数变异的技术标准共识中,建议每次上机测序时对阳性、阴性、空白质控品同步检测,以监测实验室内部质控,也可考虑在每批检测时插入 2% 检测过的样本用来监测该检测方法的重复性^[10]。本研究通过对 NIPT 与 NIPT-plus 产前筛查出的目标疾病阳性结果重复检测后进行对比,分析 NIPT 与 NIPT-plus 产前筛查系统的重复性。本研究显示,与 NIPT-plus 产前筛查系统相比,NIPT 产前筛查系统具有更好的重复性;两种筛查系统对于 13 三体、18 三体、21 三体阳性样本的检测均表现出较好的重复性。这与目前国内外指南或专家共识中推荐将 NIPT 与 NIPT-plus 产前筛查用于 13、18、21 号染色体非整倍体筛查相印证^[11-12]。

3.2 NIPT-plus 产前筛查系统内目标疾病阳性结果重复性评价

NIPT-plus 产前筛查在技术层面上实现了对其他常染色体的非整倍体及 MMS 检测,提高了胎儿染色体病的检出率,对于预防胎儿染色体 MMS 引起的生长发育迟缓、智力障碍等出生缺陷具有重要的意义^[13-15]。美国医学遗传学学会指南与国内共识指出,可将部分明确的致病性拷贝数变异(pathogenic copy number variations, pCNV)纳入筛查范围^[10-11]。本研究显示,NIPT-plus 筛查的 13、18、21 号染色体

外的 18 种其他染色体的非整倍体及 MMS 筛查阳性结果的重复性差异较大,部分阳性结果的重复性一致率为 100%,性染色体异常的重复性一致率为 65.2%,Prader Willi syndrome/Angelman syndrome 的重复性一致率为 50.0%,10q 部分三体综合征、22q11.2 deletion syndrome、7p 部分三体综合征+7q21→q31 三体综合征+7q32→qter 三体综合征的重复性一致率为 0。虽然 NIPT-plus 作为一种针对染色体的非整倍体及 MMS 的筛查技术,阳性结果的高风险孕妇需行有创产前诊断进一步明确结果,但是仍需发展测序技术和优化算法模型,提高 NIPT-plus 产前筛查的重复性,保证结果的可靠性,以减少不必要的有创产前诊断^[16-18]。

综上所述,NIPT 与 NIPT-plus 产前筛查系统对常见染色体三体的筛查与产前诊断的结果具有较高的重复性,推荐作为 13、18、21 号染色体非整倍体的一线筛查方法。即使目前 NIPT-plus 产前筛查系统对性染色体异常和 MMS 筛查的重复性为中低水平,但仍然相信伴随技术的发展革新、生物学信息分析不断优化算法,NIPT-plus 产前筛查将迎来更为广阔的临床应用前景。

[参考文献]

- [1]朱宇宁,陈雁.血清学产前筛查的现状与未来展望[J].中华检验医学杂志,2019,42(7):493-497.
- [2]Norton M E.Circulating Cell-free DNA and screening for trisomies[J].N Engl J Med,2022,387(14):1322-1324.
- [3]Lo Y M D.Discovery of cell-free fetal DNA in maternal blood and development of noninvasive prenatal testing: 2022 lasker-debakery clinical medical research award[J]. JAMA,2022,328(13):1293-1294.
- [4]陈艺升,王菲菲,陆娄恺奕,等.扩展性无创产前检测对高风险胎儿的应用分析[J].中华预防医学杂志,2021,55(12):1491-1495.
- [5]Zhu X,Chen M,Wang H,et al.Clinical utility of expanded non-invasive prenatal screening and chromosomal microarray analysis in high-risk pregnancy[J].Ultrasound Obstet Gynecol,2021,57(3):459-465.
- [6]Liang D,Cram D S,Tan H,et al.Clinical utility of noninvasive prenatal screening for expanded chromosome disease syndromes[J].Genet Med,2019,21(9):1998-2006.

- [7] Zou Y, Feng C, Qin J, et al. Performance of expanded non-invasive prenatal testing for fetal aneuploidies and copy number variations: a prospective study from a single center in Jiangxi province, China[J]. *Front Genet*, 2022, 13:1073851.
 - [8] 高阳, 卢福荣. 有机食葵仁样品中霉菌和酵母菌检测的重复性和实验室内再现性分析[J]. *工业微生物*, 2021, 51(6):34-38.
 - [9] 国家卫生健康委临床检验中心产前筛查与诊断专业委员会. 孕妇外周血胎儿游离 DNA 产前筛查实验室技术专家共识[J]. *中华检验医学杂志*, 2019, 42(5):341-346.
 - [10] 刘维强, 杨洁霞, 章钧, 等. 孕妇外周血浆胎儿游离 DNA 高通量测序筛查致病性拷贝数变异的技术标准共识[J]. *中华医学遗传学杂志*, 2021, 38(7):613-619.
 - [11] Gregg A R, Skotko B G, Benkendorf J L, et al. Noninvasive prenatal screening for fetal aneuploidy, 2016 update: a position statement of the American College of Medical Genetics and Genomics[J]. *Genet Med*, 2016, 18(10):1056-1065.
 - [12] 戚庆伟. 无创产前检测临床应用相关指南解读[J]. *发育医学电子杂志*, 2019, 7(3):161-167.
 - [13] 代鹏, 赵干业, 郭婉莹, 等. 扩展性无创产前检测应用于孕期产前筛查的临床效果分析[J]. *中华医学遗传学杂志*, 2021, 38(11):1041-1044.
 - [14] Xue H, Yu A, Lin M, et al. Efficiency of expanded non-invasive prenatal testing in the detection of fetal sub-chromosomal microdeletion and microduplication in a cohort of 31,256 single pregnancies[J]. *Sci Rep*, 2022, 12(1):19750.
 - [15] Tian W, Yuan Y, Yuan E, et al. Evaluation of the clinical utility of extended non-invasive prenatal testing in the detection of chromosomal aneuploidy and microdeletion/microduplication[J]. *Eur J Med Res*, 2023, 28(1):304.
 - [16] 代鹏, 赵干业, 邵珊珊, 等. 选择无创产前检测的孕妇是否有必要行 NIPT-plus: 50 例结果的分析[J]. *中华医学遗传学杂志*, 2021, 38(9):895-899.
 - [17] Yang L, Tan W C. Prenatal screening in the era of non-invasive prenatal testing: a Nationwide cross-sectional survey of obstetrician knowledge, attitudes and clinical practice[J]. *BMC Pregnancy Childbirth*, 2020, 20(1):579.
 - [18] Christiaens L, Chitty L S, Langlois S. Current controversies in prenatal diagnosis: expanded NIPT that includes conditions other than trisomies 13, 18, and 21 should be offered[J]. *Prenat Diagn*, 2021, 41(10):1316-1323.
- [专业责任编辑: 童国庆]
[中文编辑: 王 懿; 英文编辑: 冯佳圆]