

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2024.02.017

DNA 无创产前检测及彩色多普勒超声检查在高危孕妇胎儿染色体异常筛查中的应用价值

成 艳, 马 雯, 权秋宁, 于 青, 杜小云[△]

宝鸡市妇幼保健院遗传室, 陕西宝鸡 721000

摘 要:目的 探讨 DNA 无创产前检测(NIPT)及彩色多普勒超声(简称彩超)检查在高危孕妇胎儿染色体异常筛查中的应用价值。方法 选取 2020 年 1 月至 2022 年 12 月于该院接受产前检查的 5 862 例高危孕妇作为研究对象,均接受 NIPT、彩超检查,以羊水穿刺结果或分娩结局作为诊断胎儿染色体异常的金标准,比较 NIPT、彩超检查及二者联合检查对高危孕妇胎儿染色体异常的诊断效能。结果 5 862 例高危孕妇中共检出 167 例胎儿染色体异常,检出率为 2.85%。167 例胎儿染色体异常中胎儿染色体数目异常 161 例,构成比为 96.41%;胎儿染色体结构异常 6 例,构成比为 3.59%。彩超检查共诊断出 119 例孕妇胎儿染色体异常,经一致性分析,彩超检查诊断胎儿染色体异常的灵敏度为 0.713,特异度为 0.884,准确率为 87.96%,Kappa=0.215, $P<0.05$ 。NIPT 共诊断出 133 例孕妇胎儿染色体异常,经一致性分析,NIPT 诊断胎儿染色体异常的灵敏度为 0.796,特异度为 0.945,准确率为 94.05%,Kappa=0.408, $P<0.05$ 。彩超检查联合 NIPT 共诊断出 158 例孕妇胎儿染色体异常,经一致性分析,二者联合检查诊断胎儿染色体异常的灵敏度为 0.946,特异度为 0.986,准确率为 98.50%,Kappa=0.775, $P<0.05$ 。结论 NIPT 与彩超检查用于筛查高危孕妇胎儿染色体异常均具有一定价值,二者联合检查可获得更高的灵敏度、特异度和准确率,能有效降低漏诊及误诊风险。

关键词: DNA 无创产前检测; 彩色多普勒超声检查; 高危孕妇; 胎儿染色体异常; 应用价值

中图法分类号: R714.55

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2024)02-0217-04

Application value of DNA non-invasive prenatal testing and color Doppler ultrasound in screening of fetal chromosomal abnormalities in high-risk pregnant women

CHENG Yan, MA Wen, QUAN Qiuning, YU Qing, DU Xiaoyun[△]

Department of Genetics, Baoji Maternal and Child Health Hospital, Baoji, Shaanxi 721000, China

Abstract: Objective To explore the application value of DNA non-invasive prenatal testing (NIPT) and color Doppler ultrasound (CDUS) in screening of fetal chromosomal abnormalities in high-risk pregnant women. **Methods** A total of 5 862 high-risk pregnant women who received prenatal examination in this hospital from January 2020 to December 2022 were selected as the research objects. All of them received NIPT and CDUS examination, and the results of amniotic fluid puncture or delivery outcome were used as the "gold standard" for the diagnosis of fetal chromosomal abnormalities. The diagnostic efficacy of NIPT, CDUS and their combination for fetal chromosomal abnormalities in high-risk pregnant women were compared. **Results** Among 5 862 high-risk pregnant women, 167 cases of fetal chromosome abnormalities were detected, and the detection rate was 2.85%. Among 167 cases of fetal chromosomal abnormalities, there were 161 cases of abnormal fetal chromosome number, and the constituent ratio was 96.41%. There were 6 cases of fetal chromosomal structural abnormalities, with a constituent ratio of 3.59%. A total of 119 cases of maternal fetal chromosomal abnormalities were diagnosed by CDUS. By consistency analysis, the sensitivity of CDUS in the diagnosis of fetal chromosomal abnormalities was 0.713, the specificity was 0.884, the accuracy rate was 87.96%, Kappa=0.215, $P<0.05$. A total of 133 cases of fetal chromosomal abnormalities were diagnosed by NIPT. By consistency analysis, the sensitivity of NIPT in the diagnosis of fetal chromosomal abnormalities was 0.796, the specificity was 0.945, the accuracy rate was 94.05%, Kappa=0.408, $P<0.05$. A total of 158 cases of fetal chromosomal abnormalities were diagnosed by CDUS combined with NIPT. By consistency analysis, the sensitivity, specificity and accuracy of the combination of the two in the diagnosis of fetal chromosomal abnormalities were 0.946, 0.986, 98.50%, and Kappa=0.775, $P<0.05$. **Conclusion** Both NIPT and CDUS have certain value in detecting fetal chromosomal abnormalities in high-risk pregnant women. The combination of NIPT and CDUS can obtain higher sensitivity, specificity and accuracy, and effectively reduce the risk of

missed diagnosis and misdiagnosis.

Key words: DNA non-invasive prenatal testing; color Doppler ultrasound examination; high-risk pregnant women; fetal chromosomal abnormalities; application value

胎儿出生缺陷、畸形多与染色体异常有关,目前对染色体异常尚无有效的治疗手段,产前筛查是诊断识别胎儿染色体异常的有效方式^[1]。羊水细胞染色体核型分析是产前诊断胎儿染色体异常的金标准,但羊水穿刺是有创操作,会导致 0.2%~2.0% 的孕妇流产、早产^[2-3]。而传统血清学筛查存在假阳性、假阴性检出情况,在诊断产前胎儿染色体异常方面存在漏诊、误诊风险^[4]。随着超声检查技术与无创诊断技术的发展,超声检查可检出胎儿微小的结构异常,是目前临床常用的无创产前筛查方式,而 DNA 无创产前检测(NIPT)是一项检测胎儿非整倍染色体疾病的无创技术,在临床上已得到广泛应用,但针对无创产前检测阳性诊断情况能否完全取代介入性产前检测还需进一步研究^[5]。基于此,本研究探讨 NIPT 及彩色多普勒超声(简称彩超)检查在高危孕妇胎儿染色体异常筛查中的应用价值,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2020 年 1 月至 2022 年 12 月于本院接受产前检查的 5 862 例高危孕妇作为研究对象,高危孕妇主要包括高龄(35 岁以上)、血清学筛查高风险、不良孕产史、超声检查提示胎儿结构异常、NIPT 高风险、父母一方染色体异常等。年龄 20~45 岁,平均(32.41±4.78)岁;孕周 12~27 周,平均(19.14±2.37)周。纳入标准:(1)均接受 NIPT、彩超检查;(2)均为单胎妊娠。排除标准:(1)孕妇 1 年内接受过异体输血者;(2)自身染色体异常者;(3)既往接受过移植术、干细胞治疗者;(4)孕 4 周内接受过免疫治疗者;(5)伴有妊娠期高血压、糖尿病者;(6)羊膜腔穿刺术禁忌证者;(7)合并恶性肿瘤者。所有研究对象均知情同意并签署知情同意书。本研究经本院医学伦理委员会审核通过(2024-003)。

1.2 方法 彩超检查:采用彩色多普勒超声诊断仪,频率 1.6~4.5 MHz,设 11~13⁺ 周胎儿相关超声检查,产妇排空膀胱,取仰卧位,根据国际产科超声协会制定的相关指南^[6] 严格操作,采集图像、分析,由 2 名资深产前筛查医生进行图像质量控制,若因腹壁较厚等造成腹部图像质量欠佳,则行阴道超声检查,频率 5~9 MHz。测量包括胎盘厚度、胎心率、胎儿头臀长等相关指标,并对胎儿心脏、颅脑、四肢、腹腔等相关部位进行观察。彩超检查判断胎儿染色体异常标准,包括彩超检查显示胎儿结构异常、软指标异常及其他与染色体异常相关的指标。NIPT:产妇完成彩超检查后,均采集外周静脉血 5 mL,置于 4℃ 条件下以 3 000 r/min 离心 10 min,分离血浆提取游离 DNA,保存于-20℃ 冰箱待检。设计引物序列 DYS14F:5'-

GGGCAATGTTGTATCCTTCTC-3';设计引物序列 DYS14R:5'-GCCCATCGGTCACTTACACTTC-3';探针序列:5β-(FAM) TCTAGTGGAGAGGT-GCTC(TAMRA)-3'。PCR 扩增提取 DNA 溶液,获得对应标本的 DNA 文库,采用高通量检测技术测序,进行生物学信息分析。计算测试标本序列与人类基因参考序列比例之差,除以待测染色体的方差,得到 Z 值,当 Z 值>3 时为异常。染色体异常诊断标准:彩超检查引导定位下无菌操作,羊膜腔穿刺抽取 2~5 mL 羊水丢弃,再抽取 20 mL 羊水,立即送检进行羊水细胞培养,在细胞分裂中期,制片、染色处理,进行计数、核型分析。将接受羊水穿刺染色体检查孕妇的染色体核型分析结果作为异常诊断金标准,将不接受羊水穿刺染色体检查的孕妇,以分娩结局(新生儿娩出后儿科医生检查结果)作为异常诊断的金标准。儿科检查:儿科医生根据新生儿临床症状和体征做初步筛查,结合染色体检查加以诊断。

1.3 统计学处理 采用 SPSS22.0 统计软件对数据进行分析处理。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示;计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验;一致性采用 Kappa 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 胎儿染色体异常检出情况 5 862 例高危孕妇中共检出 167 例胎儿染色体异常,检出率为 2.85%。167 例胎儿染色体异常中羊水穿刺检出 143 例,分娩后染色体异常检出 24 例。167 例胎儿染色体异常中胎儿染色体数目异常 161 例,构成比为 96.41%,其中 13-三体 15 例(9.32%),18-三体 29 例(18.01%),21-三体 88 例(54.66%),性染色体数异常 29 例(18.01%);胎儿染色体结构异常 6 例,构成比为 3.59%,其中缺失 2 例(33.33%),重复 1 例(16.67%),其他 3 例(50.00%)。

2.2 彩超检查诊断胎儿染色体异常的效能 167 例胎儿染色体异常中彩超检查共诊断出 119 例孕妇胎儿染色体异常,构成比为 71.26%。经一致性分析,彩超检查诊断胎儿染色体异常的灵敏度为 0.713,特异度为 0.884,准确率为 87.96%,Kappa=0.215, $P < 0.05$ 。见表 1。

2.3 NIPT 诊断胎儿染色体异常的效能 167 例胎儿染色体异常中 NIPT 共诊断出 133 例孕妇胎儿染色体异常,构成比为 79.64%。经一致性分析,NIPT 诊断胎儿染色体异常的灵敏度为 0.796,特异度为 0.945,准确率为 94.05%,Kappa=0.408, $P < 0.05$ 。见表 2。

表 1 彩超检查诊断胎儿染色体异常的效能(n)			
彩超检查	金标准		合计
	阳性	阴性	
阳性	119	658	777
阴性	48	5 037	5 085
合计	167	5 695	5 862

表 2 NIPT 诊断胎儿染色体异常的效能(n)			
NIPT	金标准		合计
	阳性	阴性	
阳性	133	315	448
阴性	34	5 380	5 414
合计	167	5 695	5 862

2.4 彩超检查联合 NIPT 诊断胎儿染色体异常的效能 167 例胎儿染色体异常中彩超检查联合 NIPT 共诊断出 158 例孕妇胎儿染色体异常, 构成比为 94.61%。经一致性分析, 彩超检查联合 NIPT 诊断胎儿染色体异常的灵敏度为 0.946, 特异度为 0.986, 准确率为 98.50%, Kappa = 0.775, $P < 0.05$ 。见表 3。

表 3 彩超检查联合 NIPT 诊断胎儿染色体异常的效能(n)			
彩超检查联合 NIPT	金标准		合计
	阳性	阴性	
阳性	158	79	237
阴性	9	5 616	5 625
合计	167	5 695	5 862

3 讨 论

胎儿染色体异常是新生儿缺陷性疾病的常见原因, 早发现和早诊断有利于临床医生建立最佳决策^[7]。随着超声检查技术的发展, 孕早期超声检查可对胎儿细致情况进行筛查, 不仅可筛查出绝大多数畸形, 还可指导孕妇进一步筛查染色体是否异常, 是目前临床常用的产前无创影像学检查技术^[8]。NIPT 是一项新兴的无创检测技术, 对胎儿本身没有伤害, 孕早、中、晚期均可在孕妇外周血中发现胎儿有核红细胞, 适用范围较广, 是当今临床研究热点^[7]。因此, 本研究分析彩超检查联合 NIPT 在高危孕妇胎儿染色体异常筛查中的应用价值。

本研究结果显示, 5 862 例高危孕妇中共检出 167 例胎儿染色体异常, 检出率为 2.85%, 与文献^[9]报道结果相似。167 例胎儿染色体异常中检出胎儿染色体数目异常 161 例, 构成比为 96.41%, 说明染色体数目异常是胎儿高发染色体疾病。本研究中, 产前彩超检查胎儿染色体异常构成比为 71.26%, 经一致性分析, 彩超检查诊断胎儿染色体异常的灵敏度为 0.713, 特异度为 0.884, 准确率为 87.96%。胎儿染色体异常

可引起胎儿器官、肢体畸形, 产前超声检查是发现胎儿畸形的最主要手段之一^[10-11]。另有研究表明, 多项超声检查软指标异常可作为判断胎儿染色体异常的重要参考指标, 其中颈后半透明组织厚度(NT)增厚、鼻骨缺失与染色体异常, 尤其是 21-三体综合征关系密切^[12-13]。有研究发现, 利用 NT 增厚筛查 21-三体综合征灵敏度为 80.0%, 假阳性率为 5.0%, 利用静脉导管 a 波异常联合 NT 增厚筛查染色体非整倍异常的灵敏度为 93.5%^[14]。提示孕早期超声筛查不仅对严重结构异常有较好的临床价值, 对怀疑是胎儿染色体异常也能及早发现, 并且能及时建议孕妇进行进一步检查确诊。

本研究结果显示, NIPT 共诊断出 133 例孕妇胎儿染色体异常, 构成比为 79.64%。经一致性分析, NIPT 诊断胎儿染色体异常的灵敏度为 0.796, 特异度为 0.945, 准确率为 94.05%。NIPT 是通过提取孕妇外周静脉血, 利用高通量基因检测技术等对胎儿非整倍染色体疾病进行判断, 准确率达 99.99%, 相对于传统血清筛查, 有更高的准确率及极低的假阳性率, 被广泛应用于临床中^[15]。另外, 尽管 NIPT 的灵敏度高于传统血清学筛查, 但由于是非直接获取胎儿遗传物质, 仍存在假阳性、假阴性的风险, 因而 NIPT 结果提示高风险, 仍需通过进一步产前检查确诊。产前常见遗传病为 21-三体、13-三体、18-三体等综合征, 有研究显示, 在高危孕妇羊水细胞中染色体异常检出率为 2.80%~5.80%^[3,16]。本研究发现, 产前彩超检查诊断胎儿染色体异常效能低于 NIPT, 而二者联合检查诊断胎儿染色体异常的灵敏度为 0.946, 特异度为 0.986, 准确率为 98.50%, 二者联合检查与介入性产前检测有较高的一致性(Kappa=0.775), 提示临床可通过无创联合检测替代有创检测, 从而在保障检测准确性的前提下提高产前检测的安全性, 对高危孕妇胎儿染色体异常筛查具有较高的临床应用价值, 与盛娟^[17]的研究结果相符。产前超声检查虽然能够显示胎儿严重的结构异常, 但其自身也存在局限性, 尤其是对 21-三体综合征胎儿, 超声检查缺乏特异性表现, 对其结构异常未必可见, 因此, 对于染色体异常的筛查还需 NIPT 辅助^[18]。而 NIPT 对染色体异常筛查虽有一定优势, 可避免产前有创检查引起的宫内感染、流产等不良事件, 但也存在局限性, 对多胎妊娠、孕妇自身染色体异常者不适用, 并且外周血胎儿游离 DNA 的因素均可影响结果^[19]。因此, NIPT 虽可筛查一部分染色体异常, 但对超声检查异常, 尤其是超声检查软指标异常者, 应进行羊水穿刺确诊, 对肥胖、高龄、人工受孕、双胎、伴有恶性肿瘤的孕妇, 即使超声检查与 NIPT 未见异常, 也建议孕中期进行羊水细胞染色体核型分析^[20]。

综上所述, 彩超检查与 NIPT 在诊断高危孕妇胎儿染色体异常方面均有一定的应用价值, 但也均具有

一定的局限性,二者联合检查可获得更高的灵敏度、特异度,能有效降低漏诊、误诊风险,提高临床诊断的准确率,值得临床推广使用。

参考文献

[1] 吕虹,吴玥丽,刘灵,等. 扩展性无创产前检测在胎儿染色体异常筛查中的应用[J]. 郑州大学学报(医学版),2022,57(6):840-844.

[2] 李超波,王珺,张靖,等. 329 例唐筛高风险孕妇羊水穿刺结果及妊娠结局[J]. 中国优生与遗传杂志,2020,27(8):962-964.

[3] 周月云,张庆娥,董晶晶,等. 880 例不同产前诊断指征孕妇羊水穿刺胎儿染色体核型的对比分析[J]. 中国现代医学杂志,2020,30(10):33-37.

[4] 梁荣丽. 超声检查联合孕期血清学筛查对胎儿染色体异常诊断价值及其临床意义分析[J]. 中国妇幼保健,2020,35(4):692-694.

[5] 黄雅兰. 产前超声和无创产前基因检测在胎儿染色体异常筛查中的应用价值[J]. 中国优生与遗传杂志,2020,28(12):1485-1488.

[6] International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology, BILARDO C M, CHAOUI R, et al. ISUOG Practice Guidelines (updated): performance of 11-14-week ultrasound scan [J]. Ultrasound Obstet Gynecol, 2023,61(1):127-143.

[7] 王路明,周赤燕,胡月,等. 12 085 例无创产前基因检测在胎儿染色体异常筛查中的临床应用[J]. 中华医学遗传学杂志,2020,37(10):1069-1073.

[8] 李书平,胥红斌,韩慧,等. 孕中期血清学筛查、超声、NIPT 联合在胎儿染色体异常筛查中的价值[J]. 中国超声医学杂志,2020,36(2):166-169.

[9] 李扬,文晓燕,孙美云,等. 无创 DNA 检查低风险的超声软指标异常胎儿染色体异常检出情况分析[J]. 山东医药,2022,62(8):67-70.

[10] KAGAN K O, SONEK J, KOZLOWSKI P. Antenatal screening for chromosomal abnormalities[J]. Arch Gynecol Obstet,2022,305(4):825-835.

[11] FIORENTINO D G, HUGHES F. Screening for chromosomal abnormalities[J]. Neoreviews, 2021, 22 (12): 805-

818.

[12] 赵萍,宋勇,崔丽清,等. 超声软指标在胎儿染色体异常筛查中的应用价值[J]. 临床超声医学杂志,2021,23(1):18-22.

[13] JI X Q, XIA Y, ZHANG H, et al. Study on the application of ultrasonography in the diagnosis of fetal cardiac structural abnormalities and the relationship between fetal cardiac structural abnormalities with chromosome abnormalities in early pregnancy[J]. Ann Transl Med, 2021, 9 (24): 1790.

[14] MINNELLA G P, CRUPANO F M, SYNGELAKI A, et al. Diagnosis of major heart defects by routine first-trimester ultrasound examination: association with increased nuchal translucency, tricuspid regurgitation and abnormal flow in ductus venosus[J]. Ultrasound Obstet Gynecol, 2020,55(5):637-644.

[15] 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.

[16] 曾兰,邓光明,邓艺,等. 15 156 例孕中期和孕晚期高危孕妇羊水细胞染色体核型分析[J]. 四川医学,2020,41(1):62-65.

[17] 盛娟. 彩色多普勒超声联合无创 DNA 检测在诊断高危产妇胎儿染色体异常中的应用价值分析[J]. 中国妇幼保健,2019,34(4):860-863.

[18] 蔺笑萍,丁丁. 超声检查联合无创产前基因检测在孕 11~13⁺₆ 周胎儿染色体异常筛查中应用价值分析[J]. 临床军医杂志,2020,48(8):928-929.

[19] ALBERRY M S, AZIZ E, AHMED S R, et al. Non invasive prenatal testing (NIPT) for common aneuploidies and beyond[J]. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2021, 258(19): 424-429.

[20] BEDEI I, WOLTER A, WEBER A, et al. Chances and challenges of new genetic screening technologies (NIPT) in prenatal medicine from a clinical perspective: a narrative review[J]. Genes (Basel), 2021, 12(4): 501.

(收稿日期:2023-04-20 修回日期:2023-11-08)

(上接第 216 页)

[13] 徐慧,陈敏,孙永峰,等. 贵阳地区儿童重症社区获得性肺炎肺泡灌洗液病原及药敏分析[J]. 广东医学,2020,41(23):2394-2397.

[14] WASO-REYNEKE M, KHAN S, KHAN W. Interaction of bdellovibrio bacteriovorus with gram-negative and gram-positive bacteria in dual species and polymicrobial communities[J]. Microorganisms, 2022, 10(4): 793.

[15] PENG Z, ZHOU J, TIAN L. Pathogenic characteristics of sputum and bronchoalveolar lavage fluid samples from patients with lower respiratory tract infection in a large teaching hospital in China: a retrospective study[J]. BMC

Pulm Med, 2020, 20(1): 233-234.

[16] 方进识,张宁,方芳. 支气管肺泡灌洗治疗在儿童重症肺炎支原体肺炎的应用价值[J]. 安徽医学,2020,41(7):816-819.

[17] 许惠敏,马永涛,李杰. 重症肺炎儿童患者痰液中的细菌构成及其临床意义[J]. 中国儿童保健杂志,2020,28(1):93-96.

[18] 郝婷婷,朱航,杨慧,等. 糜蛋白酶联合肺泡灌洗治疗儿童重症肺炎的疗效[J]. 中国妇幼健康研究,2022,33(5):59-62.

(收稿日期:2023-05-03 修回日期:2023-10-11)