

• 论 著 •

BoBs 技术:快速产前检测非整倍体和微缺失综合征的有效方法

代文成¹,张 勇¹,余 珍¹,何美香²,郭晓利¹,马晓蓉¹,王丽霞¹,马光娟^{1△}

(1. 新疆维吾尔自治区妇幼保健院产前诊断中心,新疆乌鲁木齐 830000;

2. 新疆普瑞赛新医学检验所,新疆乌鲁木齐 830000)

摘要:目的 探讨一种基于细菌人工染色体微珠(BoBs)检测非整倍体和微缺失综合征的快速产前诊断方法的有效性。方法 对 1 868 例羊水进行 BoBs 检测,检测结果均由染色体核型分析、荧光原位杂交技术或染色体微阵列分析技术证实。结果 BoBs 检测出 130 例异常标本,包括纯合型 21-三体综合征 91 例,纯合型 18-三体综合征 23 例,性染色体非整倍体 6 例,嵌合型 21-三体综合征 1 例,嵌合型性染色体 5 例,微缺失和微重复 4 例,漏诊嵌合型 5 例。染色体核型分析检出异常非整倍体 131 例,漏检 4 例微缺失和微重复。对 1 868 例标本的 BoBs 检测结果进行统计分析,与确诊方法比较,染色体非整倍体阳性符合率为 96.18%,阴性符合率为 100.00%,总符合率为 99.73%。结论 染色体核型分析联合 BoBs 检测可以快速、精确、有效地检测常见染色体非整倍体异常和 9 种染色体微缺失综合征,在产前诊断中具有较好的应用价值。

关键词: 产前诊断; 微缺失; 染色体核型分析; 细菌人工染色体微珠

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2020.04.015

中图法分类号:R714.53

文章编号:1673-4130(2020)04-0443-03

文献标识码:A

BoBs technology: an effective method for rapid prenatal detection of aneuploidy and microdeletion syndrome

DAI Wencheng¹, ZHANG Yong¹, YU Zhen¹, HE Meixiang²,

GUO Xiaoli¹, MA Xiaorong¹, WANG Lixia¹, MA Guangjuan^{1△}

(1. Department of Prenatal Diagnose Center, Xinjiang Maternal and Child Health Hospital, Urumuqi, Xinjiang 830000, China; 2. Xinjiang Precision Medical Laboratory, Urumuqi, Xinjiang 830000, China)

Abstract: **Objective** To investigate the effectiveness of a rapid prenatal diagnosis method based on bacterial artificial chromosome beads (BoBs) for detecting aneuploidy and microdeletion syndrome. **Methods** BoBs were detected in 1 868 cases of amniotic fluid. The results were confirmed by karyotype analysis, fluorescence in situ hybridization or chromosome microarray analysis. **Results** BoBs detected 130 abnormal samples, including 91 cases of homozygous 21-trisomy syndrome, 23 cases of homozygous 18-trisomy syndrome, 6 cases of sex aneuploidy, 1 case of chimeric 21-trisomy syndrome, 5 cases of chimeric sex chromosome, 4 cases of microdeletion and microduplication, and 5 cases of missed diagnosis of chimerism. Chromosome karyotype analysis detected 131 cases of abnormal aneuploidy, and 4 cases of missed detection were slightly deleted and slightly duplicated. The BoBs test results of 1 868 samples were statistically analyzed. Compared with the confirmed method, the positive coincidence rate of chromosome aneuploid was 96.18%, the negative coincidence rate was 100.00%, and the total coincidence rate was 99.73%. **Conclusion** Chromosome karyotype analysis combined with BoBs detection can quickly, accurately and effectively detect common chromosome aneuploidy abnormalities and 9 kinds of chromosome microdeletion syndromes, which have good application value in prenatal diagnosis.

Key words: prenatal diagnosis; microdeletion; karyotype analysis; bacterial artificial chromosome beads

细胞遗传学方法的金标准为体外细胞培养及染色体核型分析,可以准确检测出染色体非整倍体及染色体倒位、易位、大于 10 Mb 的重复和缺失等结构异

常^[1]。目前应用较多的常见染色体非整倍体快速产前诊断技术包括荧光原位杂交技术和多重定量荧光聚合酶链式反应技术等^[1-3]。染色体微阵列分析技术

作者简介:代文成,男,副主任技师,主要从事产前诊断方面的研究。△ **通信作者,** E-mail: 598222788@qq.com。

本文引用格式:代文成,张勇,余珍,等. BoBs 技术:快速产前检测非整倍体和微缺失综合征的有效方法[J]. 国际检验医学杂志, 2020, 41(4):

可检测染色体微缺失和微重复,但检测结果可能出现临床意义不明的拷贝数变异^[4-7]。细菌人工染色体微珠(BoBs)检测技术除了能对 21 号、18 号、13 号及性染色体数目异常进行快速诊断外,还能对常见的 9 种染色体微缺失综合征进行检测^[8-9]。本研究联合应用 BoBs 技术与传统的染色体核型分析技术对 1 868 例羊水标本进行产前诊断,即达到快速检测染色体非整倍体又扩展了 9 种染色体微缺失综合征检测。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2015 年 11 月至 2018 年 6 月在新疆维吾尔自治区妇幼保健院就诊的 1 868 例,具有以下至少 1 项产前诊断指征的孕妇:(1)孕妇年龄≥35 岁;(2)孕妇血清学产前筛查高风险;(3)胎儿超声筛查异常;(4)孕妇无创产前筛查高风险;(5)有染色体异常、染色体微缺失综合征生育史或妊娠史。孕妇年龄 18~48 岁,孕周 18~24 周,所有孕妇均签署知情同意书后行羊水穿刺术并获得伦理委员会得批准。

1.2 方法

1.2.1 BoBs 检测 仪器与试剂耗材均购自美国 Perkin Elmer 公司,将 10 mL 羊水用德国 Qiagen 公司的试剂盒提取基因组 DNA,测量 DNA 水平后进行 DNA 标记,PCR 扩增、纯化,用微球进行杂交,显色标记。用 Luminex 200 分析仪进行高通量检测,用 BoBsoft 软件进行分析,并在 24~48 h 内得出结果。主要针对染色体 13、18、21、X、Y 非整倍体及 9 个目标区域(4p16.3、5p15.3-5p15.2、7q11.2、8q23.2-8q24.1、15q11-15q12、17p13.3、17p11.2、10p14、22q11.2)的微缺失进行检测。

1.2.2 羊水细胞培养及染色体核型分析 对培养成功的羊水细胞进行收获、常规制片、G 显带和染色体核型分析。染色体核型分析诊断标准参考 2013 年人类细胞遗传学国际命名体系(ISCN)。

2 结 果

2.1 BoBs 技术 检出 130 例染色体非整倍体,其中标准型 21-三体综合征 91 例,标准型 18-三体综合征 23 例,性染色体非整倍体 6 例,嵌合型 21-三体综合征 1 例,嵌合型性染色体 5 例,微缺失和微重复 4 例,漏诊嵌合 5 例,检出率 6.95%。金标准染色体核型分析检出非整倍体 131 例,漏检 4 例微缺失,见表 1、2。

2.2 羊水细胞染色体核型分析 胎儿羊水细胞培养成功率为 100%。统计 13、18、21、X 和 Y 染色体非整倍体 131 例,其中检出染色体数目嵌合 11 例,漏诊微缺失 4 例,检出率为 7.01%。对于 BoBs 不能检测而核型分析能检测的染色体结构改变,如倒位、易位等,将这些标本均归入正常标本。核型无法检出微缺失的不纳入,符合纳入标准的标本染色体非整倍体,评价总一致性异常(+)和正常(-)标本的频数以表格形式报告,总符合率为 99.73%,阳性符合率为

96.18%,阴性符合率为 100.00%。见表 3。

表 1 BoBs 检测异常统计结果

年份 (年)	n	21-三体 综合征 (n)	18-三体 综合征 (n)	13-三体 综合征 (n)	性染色 体异常 (n)	微缺失 (n)	合计 (n)	阳性率 (%)
2015	142	7	3	0	1	1	12	8.45
2016	807	33	13	0	4	1	51	6.31
2017	727	39	3	0	4	1	47	6.46
2018	192	13	4	0	2	1	20	10.41
合计	1 868	92	23	0	11	4	130	6.95

表 2 BoBs 方法与确诊方法统计结果(n)

标本分类	核型分析技术检出例数	BoBs 技术检出例数
正常	1 737	1 738
18 染色体非整倍体	23	23
21 染色体非整倍体	91	91
X 染色体非整倍体	6	6
21 染色体嵌合	2	1
X 染色体非整倍体嵌合	9	5
微缺失	0	4
合计	1 868	1 868

表 3 BoBs 方法与核型分析之间符合率统计结果(n)

BoBs 检测结果	确诊方法检测结果		合计
	+	-	
+	126	0	126
-	5	1 737	1 738
合计	131	1 737	1 864

3 讨 论

0.2%~1.9%的产前诊断标本存在嵌合体现象^[10]。因为限制性胎盘嵌合体较为普遍,故相对于羊水标本,绒毛标本嵌合体发生率更高^[11]。BoBs 技术检测到不同染色体嵌合的阈值为 20%~40%^[12],即 BoBs 技术检测人工混合的模拟标本和临床标本嵌合体的阈值存在轻微差异。分析其原因,可能是由于临床标本通过核型分析技术评估嵌合水平,而人工混合标本是由正常和异常的细胞系根据数学计算混合而成。因为 BoBs 技术可额外检测 9 个常见微缺失综合征关键区域的拷贝数变异,故 BoBs 技术具有对 13、18、21 号和 X、Y 染色体非整倍体以及微缺失综合征的快速产前诊断能力。

BoBs 检测与核型分析检测在常见染色体非整倍体数目异常检测方面的作用是一致的。染色体微缺失综合征患者常伴有智力低下、发育迟缓、多器官畸形及不良孕产史等症状^[13],但却是细胞染色体核型分析的盲点和难点。BoBs 检测可对常见的 9 种染色体

微缺失综合征进行诊断,这 9 种微缺失综合征在活产婴儿中的综合发生率约为 1/1 600^[14],本研究中 BoBs 检测出的 4 例染色体微缺失/微重复综合征,染色体核型分析结果显示未见异常。

BoBs 技术较为简单,仪器成本低,通量高,每个反应可检测 92 份标本。BoBs 技术与核型分析比较,BoBs 技术比核型分析能更快速获得结果,是较为理想的产前诊断补充工具。对于新发展的产前诊断实验室,开展 BoBs 技术的成本效益较高。

4 结 论

BoBs 技术能够高效检出常见染色体非整倍体和微缺失综合征,因其快速、精确、操作简便、通量高等优势,满足临床的需求,值得推广。

参考文献

[1] 代文成,蒋宇林,古丽娜孜·米吉提,等. 染色体核型分析联合 BoBs 检测在产前诊断中的应用[J]. 中华医学遗传学杂志,2018,35(3):357-360.

[2] 于丽,付杰,马京梅,等. 1 809 份羊水细胞荧光原位杂交技术与核型检测结果分析[J]. 中华检验医学杂志,2014,37(5):342-346.

[3] 余珍,代文成,魏洁,等. BoBs 检测联合染色体核型分析在 1430 例高危孕妇产前诊断中的应用[J]. 国际检验医学杂志,2018,39(1):2220-2222.

[4] MILLER D T, ADAM M P, ARADHYA S, et al. Consensus statement: chromosomal microarray is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental disabilities or congenital anomalies[J]. Am J Hum Genet, 2010,86(5):749-764.

[5] SHAFFER L G, COPPINGER J, ALLIMAN S, et al. Comparison of microarray-based detection rates for cytogenetic abnormalities in prenatal and neonatal specimens

[J]. Prenat Diagn, 2008,28(9):789-795.

[6] CHOY K W, SETLUR S R, LEE C, et al. The impact of human copy number variation on a new era of genetic testing[J]. BJOG, 2010,117(4):391-398.

[7] LEUNG T Y, POOH R K, WANG C C, et al. Classification of pathogenic or benign status of CNVs detected by microarray analysis[J]. Expert Rev Mol Diagn, 2010,10(6):717-721.

[8] VIALARD F, SIMONI G, ABOURA A, et al. Prenatal BACs-on-BeadsTM: a new technology for rapid detection of aneuploidies and microdeletions in prenatal diagnosis [J]. Prenat Diagn, 2011,31(5):500-508.

[9] 贺建新,张坤,韩彤立,等. 不伴心脏缺陷的 22q11.2 经典微缺失所致的部分性 DiGeorge 综合征 2 例[J]. 中国当代儿科杂志,2014,16(5):541-543.

[10] 梁德杨,陈瑛,王辉林,等. BACs-on-Beads: 一种快速可靠的产前诊断技术[J]. 中华围产医学杂志,2014,17(12):840-844.

[11] WANG B B, RUBIN C H, Rd W J. Mosaicism in chorionic villus sampling: an analysis of incidence and chromosomes involved in 2612 consecutive cases. [J]. Prenat Diagn, 2010,13(3):179-190.

[12] CHENG Y K Y, WONG C, WONG H K, et al. The detection of mosaicism by prenatal BoBs? [J]. Prenat Diagn, 2013,33(1):42-49.

[13] 陈鹏龙,靳春雷,单群达,等. BACs-on-BeadsTM 技术联合染色体核型分析对 1371 例高危孕妇进行产前诊断[J]. 中华医学遗传学杂志,2017,34(4):542-545.

[14] 彭艳,豆媛媛,丁娟,等. BACs-on-Beads 检测联合染色体核型分析在 1 950 例孕妇产前诊断中的应用[J]. 中国优生与遗传杂志,2019,27(4):40-42.

(收稿日期:2019-05-10 修回日期:2019-09-05)

(上接第 442 页)

gene in respiratory and non-respiratory clinical specimens at a tertiary care teaching hospital in saudi arabia[J]. Saudi Med J, 2016,37(12):1404-1407.

[11] TANG T, LIU F, LU X, et al. Evaluation of Gene-Xpert MTB/RIF for detecting Mycobacterium tuberculosis in a hospital in china[J]. J Int Med Res, 2017,45(2):816-822.

[12] 李雪黎,温海平,桑俊,等. Xpert MTB/RIF 在肺结核及耐药结核检测中的应用价值分析[J]. 国际检验医学杂志,2018,39(1):100-102.

[13] 孙蕊,王志锐,穆成,等. Xpert Mtb/RIF、痰涂片和培养在

疑似肺结核诊断中的对比研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2018,28(1):10-12.

[14] 王辉,瞿春燕,隆维东,等. Xpert Mtb/RIF 检测与 BACTEC MGIT 960 结核培养药敏联合检测在结核病诊治中的应用分析[J]. 解剖科学进展,2019,25(2):210-212.

[15] 陈俊林,黄飞,徐费凡,等. Xpert MTB/RIF 与 BACTEC MGIT960 检测结核分枝杆菌及利福平耐药差异性[J]. 中国医药导报,2018,15(1):49-52.

[16] 刘思景,丁邦显,游婧,等. T-SPOT 在儿童结核病诊断中的价值[J]. 中国感染控制杂志,2017,16(11):1060-1064.

(收稿日期:2019-05-28 修回日期:2019-09-15)