

ICS 11.020
C50
备案号:15863—2005

WS

中华人民共和国卫生行业标准

WS/T 247—2005

甲型胎儿球蛋白检测 产前监测和开放性神经管缺损 诊断准则

Approved Guideline of Systems for Alpha Fetoprotein(AFP)
Assays Used in Prenatal Screening and Diagnosis of Open
Neural Tube Defects

2005-05-08 发布

2005-12-01 实施



中华人民共和国卫生部 发布

前 言

本标准修改采用美国国家临床实验室标准化委员会(National Committee of Clinical Laboratory Standards, NCCLS) I/LA17-A 中有关条款结合我国实际进行编写,旨在规范有关甲型胎儿球蛋白检测用于产前监测和开放性神经管缺损诊断方法,从而加强准确性和可比性,提高应用价值。

本标准从 2005 年 12 月 01 日起实施。

本标准由卫生部提出。

本标准起草单位:四川省临床检验中心。

本标准主要起草人:袁红、王智斌、杨明清。

本标准由卫生部负责解释。

甲型胎儿球蛋白检测 产前监测和 开放性神经管缺损诊断准则

1 范围

本标准规定了利用母体血清甲型胎儿球蛋白(maternal serum AFP,MSAFP)和羊水甲型胎儿球蛋白(amniotic fluid AFP,AFAFP)检测进行产前监测和开放性神经管缺损(open neural tube defects,ONTD)诊断的方法和程序、标本采集和保存、正常参考值的制定、标准品的选择、干扰因素、方法优化和质量控制措施。

本标准适用于 MSAFP 和 AFAFP 检测及产前监测和开放性神经管缺损的诊断。

2 标准物质

2.1 WHO 标准物质

世界卫生组织(WHO)有 AFP 标准物质供应(72/225),用脐带血冻干制成。该标准物质使用国际单位(IU),并由定标实验室联合赋值。

2.2 中国国家标准物质

中国还没有国家标准物质。

在中国的国家标准物质(其定值应溯源到 WHO 标准物质)确定以前,生产厂商应使用 WHO、英国、美国标准物质标定实验室日常使用的标准物质,或直接使用 WHO、英国、美国标准物质作为实验室日常使用的标准物质。

在中国的国家标准物质确定以后,实验室可使用国家标准物质。

2.3 标准物质的使用

2.3.1 使用标准物质制作的工作曲线应最大限度地适应临床标本的 AFP 含量范围,尽量避免对血清标本进行稀释。

2.3.2 工作曲线以母体血清 AFP 检测为准。羊水需使用试剂盒生产厂商在试剂盒中提供的稀释液或单独出售的稀释液作适当稀释(1/100 到 1/200)后检测。实验室使用自制的稀释液时,必须经过对照试验证明其适合试剂盒的检测需要,并在分析过程中带入稀释质控品以监测稀释过程的精确度。

2.3.3 制备工作曲线

统一使用 IU 作为 AFP 单位,或使用试剂盒提供的转换因子转换为 IU 报告 AFP 检测结果。

3 标本收集、运输和贮存

3.1 标本收集

3.1.1 血清

血液收集在无抗凝剂的玻璃管内,室温放置 30~45 分钟,血块收缩后,以 1 000~1 200g 离心 5~10 分钟,获得血清标本。标本有乳糜微粒或严重溶血,为不合格标本。

3.1.2 血浆

试剂盒允许时,可使用血浆标本。

3.1.3 羊水

用标准的羊水采集技术收集羊水,实验或送检前将样本离心,去除红细胞,并做记录。

3.2 标本保存、运输

血清:采血后立即分离血清,可以常温运送标本,实验前或运送前放 4℃~8℃冰箱保存。
羊水:实验前必须贮存于 4℃~8℃冰箱,温度较高或运送时间长,标本应放置冰块送检。
用于 MSAFP 或 AFAFP 分析的标本,放置于带塞的管子内,在 -20℃ 可延长保存时间。

4 检测方法

AFP 的定量测定方法包括:放射免疫分析技术、酶联免疫吸附技术和发光免疫分析技术等。检测时严格按照试剂盒说明书操作。

5 质量保证

建立严格的质量保证措施保证监测的质量。

5.1 参考值的制定

监测实验室必须建立自身的参考值,或者证明利用其他来源的参考值是适当的。MSAFP 监测参考值是每个实验室使用自身的每一孕周的监测对象实验结果计算出的一组中位值。病人结果用相应孕周的正常均值的倍数(multiples of the median, MoM)表示。

5.1.1 母体血清中位值的建立

各实验室应使用选定的试剂和自身监测对象(15 到 20 孕周的孕妇,每个孕周作 100 份 MSAFP 检测)计算中位值建立本实验室的参考值。计算中位值时不必排除异常母体标本的测定结果,但使用未经筛选的样本来测定中位值可能会有微小的误差。

对于不能在开始监测前独自收集到足够标本的实验室,可以采用以下方法加以解决:

选择 A:首先,让已经建立的监测实验室检测该实验室监测对象的 MSAFP,然后在该实验室对相同血清进行测定。当收集到足够的的数据以后计算该实验室中位值。

选择 B:从另一个监测实验室获取血清样本,检测后建立中位值。

选择 C:使用一个与该实验室使用相同试剂盒的监测实验室的中位值。从监测实验室获得 50~100 份已经测定 MSAFP 的样本并在该实验室进行检测,如果结果相差不超过±5%,则使用监测实验室的中位值开始进行监测。注意观察监测结果的阳性率,当积累了足够的的数据以后计算本实验室的中位值。如果提供血清和中位值的实验室使用了不同的试剂盒,应在完成上述工作之后,使用 50~100 份样本 MSAFP 结果进行线性回归分析,建立两组测定结果的相关性,使用回归方程将参考实验室提供的中位值转换成适合于本实验室使用的中位值。进行线性回归分析克服两个实验室之间可能存在的恒定系统误差。

选择 D(加权均数对数线性回归):在 14 到 25 孕周期间均呈现对数—线性相关,可以用每孕周的 MSAFP 值计算加权均值,然后进行对数—线性回归分析,以获得数学方程。依方程计算出其它孕周数值作为中位值用于监测,使得那些数据不足的孕周可通过推算得出中位值。

5.1.2 羊水中位值的建立同母体血清中位值的建立

5.2 AFP 实验的室内质控

所有的标准质控方法均适用于 AFP 实验的室内质控。

控制品的含量应在医学决定水平(cutoff 值)附近。三种质量控制品:“正常浓度控制品”、“高浓度控制品”和“极高浓度控制品”,其 AFP 浓度分别为 30~45IU/mL、60~90IU/mL 和 100~150IU/mL。

使用自备或购买质控血清进行室内质控,其数量应足够一年使用。

血清在冻融过程中 AFP 含量稳定,实验室可以通过测定以往的某个病人标本来监测长期的实验漂移。该标本应是在计算和制定现在使用的中位值时所检测的病人标本。如果检测结果变化幅度超过了 5%~8%,中位值和监测 cutoff 值就可能发生了相应的漂移,应重新计算和校准参考值。

如果测定结果发生了稳定的改变,并且中位值的改变超过了 5%,则应选择漂移发生后的数据重新计算中位值。如果这些数据不足以计算一组可靠的中位值,可使用一个校正因子对旧的中位值进行校

正后作为新的中位值。

在标本量很大时,应在实验过程中随机加入质控进行监测。

5.3 实验室工作

血清 AFP 水平与孕龄、母体体重、种族、胰岛素依赖性糖尿病和多胎妊娠有关,高低各不相同,解释血清 AFP 结果时必须考虑以上因素。

应综合考虑病人本身因素和 AFP 测定因素来评估神经管缺损的监测报告,充分考虑了各方面引起变异的因素和问题后,为临床医生提供合理的建议。

评价一个实验室进行 AFP 监测的资格时必须考虑到如下因素:

- ①参考值必须来自本实验室或证明使用的参考值适合于本实验室的监测对象。
- ②影响 AFP 结果的所有因素都应加以考虑。
- ③评估神经管缺损时必须考虑到病人的特殊情况。
- ④向医生提供对结果进行解释的帮助。
- ⑤对孕妇 MSAFP 监测应有一个合理(与大型监测中心相对一致)的总阳性率(initial percentage of women with positive results, IPR)。

5.4 室间质量评价

开展 AFP 监测的实验室必须参加权威机构组织的 AFP 室间质量评价活动并合格。

5.5 监测过程中保证监测质量的其他措施

- ①通过对胎儿畸形检出率和漏检率的追踪观察来评价监测程序的能力。较大实验室考虑这种监测方式。
 - ②通过对 IPR 的监测来评价监测效果。
- 标本量达到 300~500 份时,应至少每个月对该检出率进行一次监测。

6 数据处理

6.1 单位

单位使用国际单位 IU/mL。

6.2 精密度

在临床决定范围内(2.0 至 2.5 MoM),批间 CV \leq 10%,不精密度对 MSAFP 监测结果可靠性的影响比较小。

6.3 工作曲线范围

AFP 实验的工作曲线范围应涵盖绝大多数需要做该项检验的正常标本和病理标本。该工作曲线范围包含正常孕妇均值的 0.5 至 8.0 倍范围,浓度大约是 10IU/mL 到 200IU/mL。超过最大检测限的标本应稀释后重新测定。

6.4 校准和准确度

定期校准仪器及加样器的精确度,避免不精确度造成的结果误差。

6.5 cutoff 值

cutoff 值是判断监测对象的检测结果是否异常的标准,其表达方式为中位值的倍数,不同监测中心可使用不同的 cutoff 值。正常孕妇 MSAFP 测定结果中,如以 3 倍中位值做为 cutoff 值,大约有 1% 会超过 cutoff 值;以 2.5 倍中位值做为 cutoff 值,大约 2% 超过;以 2 倍中位值做为 cutoff 值,大约 5% 超过。对初检结果超过 cutoff 值的正常孕妇应做进一步的检查(重新抽血复查、超声检查和校正孕龄等)。

7 监测方法及结果解释

选择不同的 AFP 诊断阈值会直接影响到对 ONTD 监测的假阳性率和检出率。母体的体重对 AFAFP 总量没有影响。胰岛素依赖性糖尿病孕妇的 MSAFP 水平较低(大约 20%)。MSAFP 实验结

果用相应孕龄无 ONTD 孕妇检测结果的中位值的倍数表示。无 ONTD 母体的年龄、是否单身及地理因素都不会影响其血清和羊水 AFP 测定结果。

7.1 母体血 AFP 测定

7.1.1 检测时的孕龄

实验室在提供结果解释时必须明确采集标本时病人的孕龄。

7.1.1.1 孕周的计算方法

送检血清样本进行 MSAFP 测定时统一采用实周算法。结合末次月经(last menstrual period, LMP)和声像监测估算孕龄改善 ONTD 的监测效果。

常规使用二顶骨直径测定来计算孕龄,可能会错误提高开放性脊柱裂的检出阳性率。

7.1.1.2 检测最佳时间

产前诊断的最佳时间为 16 到 18 孕周。15 孕周之前用 MSAFP 监测 ONTD 是不可靠的,同时也不推荐在 20 孕周以后进行。

7.1.1.3 监测方案

MSAFP 初检结果升高时,应对 MSAFP 进行两次连续的检测(采样时间间隔 1 周以上),再进行进一步的诊断检查。然后进行声谱仪检查,其目的是:(a)确认孕期;(b)检查是否是双胞胎;(c)评估胎儿的发育状况;(d)检查无脑畸形。如果 MSAFP 升高仍然得不到合理解释,应再次进行超声检查以查找其他的胎儿畸形,特别是开放性脊柱裂和开放性腹壁缺损。最后进行羊水 AFP(AFAFP)检测。

7.1.1.4 结果报告

每一项实验均应立即进行并及时发出报告。

7.1.2 正常参考值

7.1.2.1 正常参考值

妊娠中期的 MSAFP 浓度正常中位值大约每周上升 15%。

某孕周的正常单胎孕妇的 AFP 值大约 90%都介于 0.5 到 2 倍中位值(16 实周时,大约为 35IU/mL)之间。每一孕周的 MSAFP 值近似于对数正态分布。将结果绘制成图,其分布向一侧倾斜,顶部的值特别大,呈钟形曲线分布。

7.1.2.2 解释 MSAFP 结果的统计方法

将相同孕周的正常孕妇的测定结果计算出中位值,然后用 MoM 表示病人的 AFP 测定结果。

7.1.3 MSAFP 升高的临床意义

7.1.3.1 开放性神经管缺损

妊娠妇女血清 AFP 测定的目的是为了鉴别 ONTD,特别是胎儿开放性脊柱裂。开放性脊柱裂孕妇 MSAFP 大约相当于正常单胎中位值的 4 倍,而无脑畸形孕妇的 MSAFP 则相当于正常中位值的 8 倍。对 cutoff 值附近的 MSAFP 结果的解释规则应进行定期评审。

7.1.3.2 多胎妊娠

双胞胎妊娠的 MSAFP 大约相当于单胎妊娠的 2 倍,三胎则大约为 3 倍。因此一旦确认为多胎妊娠,则需要使用相应的多胎妊娠参考范围对结果作恰当诊断。

7.1.3.3 对死胎、先兆流产、低体重儿或早产儿的处理

这些情况也会造成 MSAFP 水平升高。对异常结果,应该在做完所有必需的进一步检查之后,再重新进行详细分析。

7.1.3.4 与 MSAFP 升高相关的其他主要的胎儿畸形

开放性腹壁缺损和芬兰型先天性肾病应通过 MSAFP 监测加以鉴定。

7.2 羊水 AFP 测定

7.2.1 检测时的孕龄

7.2.1.1 孕周的计算方法

参照母体 MSAFP 检测的孕周计算方法(7.1.1.1)计算孕周。

7.2.1.2 推荐的检测时间

推荐在 16~22 孕周进行羊水分析监测 ONTD。

7.2.2 正常参考值

7.2.2.1 正常参考值

正常孕妇的 AFAP 水平均在 5~40kIU/mL 间。妊娠 17 周的正常中位值大约是 10kIU/mL。

7.2.2.2 解释羊水 AFP 结果的统计方法

使用与 MSAFP 相同的方法对 AFAP 结果进行统计分析。

7.2.3 AFAP 水平升高的临床意义

7.2.3.1 开放性神经管缺损

AFAP 的阳性结果需对羊水进行 HbF 分析加以纠正。但由于可能出现胎儿血对样本的污染,因此不能根据胎儿血的存在直接排除 ONTD。

排除 AFP 假阳性结果最可靠和最特异的方法是检测神经酶—乙酰胆碱酯酶(acetylcholinesterase, AchE)。AchE 分析是针对羊水 AFP 阳性结果必须做的确认试验。检测方法参照有关文献。

开展该项实验有困难的小实验室应将标本送到较大的实验室作 AchE 分析。

7.2.3.2 死胎

死胎也会造成 AFAP 水平上升。死胎羊水 AchE 凝胶分析会出现一种特有的斑点状模式。

7.2.3.3 误抽吸母体尿的鉴别

抽取羊水时错误地抽吸了母亲膀胱中的尿标本,AFAP 浓度常常低得无法检测。应通过 pH(新鲜吸取的尿标本 pH 较低)或“蕨叶试验”(尿标本为阴性)加以鉴别。

蕨叶试验的做法是:将一滴样本滴在一块载玻片上,自然干燥后用显微镜镜检,羊水标本会出现一种与蕨类植物叶子形状类似的特殊结晶结构。

7.2.3.4 其他胎儿畸形

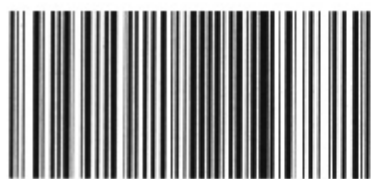
其他主要的胎儿畸形也可造成 AFAP 监测结果升高。开放性腹壁缺损也是常见的胎儿畸形之一。由于 Turner's 综合征有膀胱水囊形成,如果发生水囊破裂或不小心中抽到了水囊部位,也会导致 AFP 结果升高。

中 华 人 民 共 和 国
卫 生 行 业 标 准
甲 型 胎 儿 球 蛋 白 检 测
产 前 监 测 和 开 放 性 神 经 管 缺 损 诊 断 准 则
WS/T 247—2005

*

出版发行：人民卫生出版社（中继线 67616688）
地 址：（100078）北京市丰台区方庄芳群园 3 区 3 号楼
网 址：<http://www.pmph.com>
E - mail：pmph@pmph.com
印 刷：北京新丰印刷厂
经 销：新华书店
开 本：880 × 1230 1/16 印张：0.75
字 数：22 千字
版 次：2006 年 5 月第 1 版 2006 年 5 月第 1 版第 1 次印刷
书 号：14117 · 10
定 价：6.00 元

著作权所有，请勿擅自用本书制作各类出版物，违者必究
（凡属印装质量问题请与本社销售部联系退换）



WS/T 247-2005