

年龄及孕周对双胎妊娠孕妇胎儿游离 DNA 浓度的影响

李珊珊 张 萌 王 威 王 昕 陈玉娇 阴颖宏 王—鹏

摘 要 **目的** 回顾性分析筛查年龄及采样孕周对双胎妊娠孕妇外周血胎儿游离 DNA 浓度的影响。**方法** 以同期进行无创产前检测的单胎妊娠孕妇为对照,对双胎妊娠孕妇无创产前检测结果及数据进行分析,评价双胎妊娠孕妇的筛查年龄和采样孕周对胎儿游离 DNA 浓度的影响。**结果** 双胎妊娠孕妇 NIPT 平均筛查年龄及采样孕周均小于单胎,二者筛查年龄分别为 31.72 ± 3.45 岁和 33.14 ± 3.73 岁 ($P < 0.01$);采样孕周分别为 15.30 ± 1.94 周和 16.19 ± 2.94 周 ($P < 0.01$)。各年龄组双胎和单胎妊娠孕妇的胎儿游离 DNA 浓度差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。双胎妊娠孕妇胎儿游离 DNA 浓度在孕 16 ~ 17 周及 18 ~ 19 周显著高于单胎 ($P < 0.05$)。双胎妊娠孕妇首次采血建库检测成功率低于单胎,二者成功率分别为 97.13% 和 99.07% ($P < 0.05$)。**结论** 双胎妊娠孕妇 cfDNA 个体差异较大,可根据其临床指征,对双胎妊娠孕妇的 NIPT 筛查年龄及孕周做出适宜选择,适当提前 NIPT 筛查年龄、延后采样孕周,以减少因 cfDNA 浓度不足造成 NIPT 的检测失败。

关键词 双胎 无创产前检测 胎儿游离 DNA 浓度

中图分类号 R596;R714.55

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2022.01.012

Effects of the Age and Gestational Weeks on Plasma Cell-free DNA Concentration in Twin Pregnant Women. LI Shanshan, ZHANG Meng, WANG Wei, et al. Prenatal Diagnostic Center, Beijing Obstetrics and Gynecology Hospital, Capital Medical University, Beijing 100026, China

Abstract **Objective** The effect of screening age and gestational weeks on plasma cell-free DNA concentration in pregnant women with twin pregnancy was retrospectively analyzed. **Methods** The results and data of noninvasive prenatal testing (NIPT) were analyzed with single pregnant women who underwent NIPT during the same period as the control group. The effects of age and sampling gestational weeks of the pregnant women on cell-free DNA concentration in the peripheral blood of pregnant women were evaluated. **Results** The mean detection age and sampling gestational weeks of NIPT in twins were lower than those in single pregnancies (31.72 ± 3.45 years, 33.14 ± 3.73 years, respectively, $P < 0.01$); Gestational weeks were 15.30 ± 1.94 weeks and 16.19 ± 2.94 weeks respectively ($P < 0.01$). There was no significant difference in the concentration of cell-free DNA among the age groups. The cell-free DNA concentration of twin pregnant women was higher than that of single pregnant women at 16 to 17 gestational weeks and 18 to 19 gestational weeks ($P < 0.05$). The success rate of the first database construction in the twins was lower than that in the single pregnancy (97.13% and 99.07%, respectively, $P < 0.05$). **Conclusion** The NIPT screening age can be appropriately advanced and the gestational weeks of NIPT sampling of twin pregnant women can be appropriately postponed, in order to avoid the failure of detection due to the insufficient concentration of cell-free DNA.

Key words Twin pregnancy; Noninvasive prenatal testing; Concentration of cell-free DNA

随着高龄高危孕妇比例增加和辅助生殖技术的蓬勃发展,近年来,双胎妊娠的出生率从 2.2% 增长到 3.0%,增加了双胎妊娠产前筛查和产前诊断的复杂性和难度^[1,2]。由于传统的产前血清学筛查技术对双胎妊娠孕妇胎儿染色体非整倍体筛查能力有限,既往双胎妊娠孕妇多通过侵入性产前诊断排除胎儿染色体病。但传统产前筛查的假阳性率及侵入性产

前诊断流产、感染等发生的风险性,给孕妇造成焦虑和恐慌,也降低了孕妇对侵入性产前诊断的依从性^[3-5]。近年来随着分子遗传技术的飞速发展,无创产前检测 (non-invasive prenatal test, NIPT) 等技术受到越来越多的关注和应用。有研究表明,相较于传统的血清学生化指标的产前筛查方法,NIPT 检测双胎非整倍体的准确性更高,假阳性率更低,其检测双胎非整倍体的准确性接近于单胎检测^[6]。

NIPT 检测流程较为复杂,其质量控制影响因素较多,其中胎儿游离 DNA (cell-free DNA, cfDNA) 浓度与 NIPT 的准确性密切相关,为保证 NIPT 的准确

基金项目:国家重点研发计划项目 (2016YFC1000101)

作者单位:100026 首都医科大学附属北京妇产医院产前诊断中心

通信作者:王—鹏,电子邮箱:wangyipeng@ccmu.edu.cn

性,cfDNA 浓度至少达到 4% 的最低检测浓度标准^[7,8]。本研究拟对笔者医院产前诊断中心进行 NIPT 的双胎妊娠孕妇就诊及测序数据进行回顾性分析,评价双胎妊娠孕妇进行 NIPT 的 cfDNA 浓度可能存在的影响因素。

对象与方法

1. 研究对象:回顾性研究 2019 年 1 ~ 12 月于首都医科大学附属北京妇产医院就诊,接受 NIPT 的 3900 例孕妇临床信息,其中双胎妊娠孕妇 244 例,单胎妊娠孕妇 3656 例。依据本实验室 NIPT 的质控标准,当检测样本 cfDNA 浓度 < 3.5% 时,判断为不合格,经过孕妇知情同意后进行二次采血检测。当二次采血检测 cfDNA 浓度 ≥ 3.5% ,判为合格,并以二次采血样本作为检测对象进入之后测序数据分析;当二次采血检测 cfDNA 浓度 < 3.5% ,判为检测失败,无法得出准确测序数据分析结果。本研究已经通过首都医科大学附属北京妇产医院医学伦理学委员会的批准(伦理审批号:2019 - KY - 046 - 01),依据《孕妇外周血游离胎儿游离 DNA 产前筛查与诊断技术规范》,所有参与研究的孕妇均签署知情同意书接受 NIPT 检测。

2. 研究方法:分组回顾性整理归纳双胎/单胎妊娠孕妇 NIPT 检测的筛查年龄、采样孕周分布,分析不同筛查年龄、采样孕周的双胎/单胎妊娠孕妇 cfDNA 浓度的差异。

3. 统计学方法:采用 SPSS 17.0 及 Graphpad Prism 7.0 统计学软件对数据进行统计分析和做图;计数资料以例数(*n*)及百分比(%)表示,定量资料用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示;组间比较采用 χ^2 检验、*t* 检验,以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

1. 研究对象基本特征:依据本实验室 NIPT 的质控标准,排除连续两次检测 cfDNA 浓度 < 3.5% 的样本,即入组分析双胎妊娠孕妇 241 例和单胎妊娠孕妇对照 3639 例。双胎妊娠孕妇平均筛查年龄为 31.72 ± 3.45 岁,平均采样孕周为 15.30 ± 1.94 周,平均 cfDNA 浓度为 8.84% ± 3.96% ;单胎妊娠孕妇平均筛查年龄为 33.14 ± 3.73 岁,平均采样孕周为 16.19 ± 2.94 周,平均 cfDNA 浓度为 8.45% ± 3.50% (表 1)。

双胎妊娠孕妇中筛查年龄 25 ~ 29 岁、30 ~ 34 岁占比较高,分别为 66 例(27.39%)和 119 例(49.38%);单胎妊娠孕妇对照组 30 ~ 34 岁、35 ~ 39 岁占比较高,分别为 1482 例(40.73%)和 1369 例(37.62%)。

表 1 双胎/单胎妊娠孕妇一般资料分析 [*n*(%), $\bar{x} \pm s$]

项目	双胎(<i>n</i> = 241)	单胎(<i>n</i> = 3639)
年龄(岁)	31.72 ± 3.45	33.14 ± 3.73 *
20 ~ 24	2(0.83)	36(0.99)
25 ~ 29	66(27.39)	640(17.59)
30 ~ 34	119(49.38)	1482(40.73)
35 ~ 39	51(21.16)	1369(37.62)
≥ 40	3(1.24)	112(3.08)
孕周(周)	15.30 ± 1.94	16.19 ± 2.94 *
12 ~ 13	51(21.15)	779(21.41)
14 ~ 15	67(27.80)	790(21.71)
16 ~ 17	96(39.83)	1022(28.08)
18 ~ 19	23(9.54)	471(12.94)
≥ 20	4(1.66)	577(15.86)
cfDNA 浓度(%)	8.84 ± 3.96	8.45 ± 3.50

与双胎比较,**P* < 0.01

双胎/单胎妊娠孕妇,采样孕周均集中在 12 ~ 19 周,16 ~ 17 周占比最高,分别为 96 例(39.83%)和 1022 例(28.08%)。

2. 双胎/单胎妊娠孕妇 NIPT 筛查年龄对 cfDNA 浓度的影响:以不同年龄分组,20 ~ 24 岁、25 ~ 29 岁、30 ~ 34 岁、35 ~ 39 岁和 ≥ 40 岁年龄组的双胎妊娠孕妇与单胎的 cfDNA 浓度比较差异均无统计学意义(*P* > 0.05,图 1)。

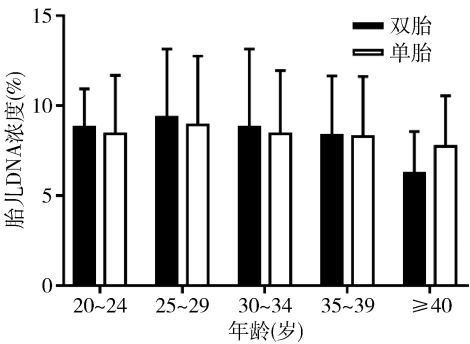


图 1 不同筛查年龄的双胎/单胎妊娠孕妇 cfDNA 浓度对比

3. 双胎/单胎妊娠孕妇 NIPT 采样孕周对 cfDNA 浓度的影响:以不同采样孕周分组,12 ~ 13 周、14 ~ 15 周和 ≥ 20 周组的双胎与单胎妊娠孕妇的 cfDNA 浓度比较差异均无统计学意义(*P* > 0.05),16 ~ 17 周、18 ~ 19 周组的双胎妊娠孕妇 cfDNA 浓度高于同组单胎(*P* < 0.05,图 2)。

4. 双胎/单胎妊娠孕妇 NIPT 建库成功率对比:244 例双胎妊娠孕妇中,7 例因 cfDNA 浓度 < 3.5% 首次采血建库检测不合格,其成功率为 97.13%。经知情同意后对首次采血建库不合格孕妇行二次采血建库,4 例检测成功,其成功率为 57.14%。

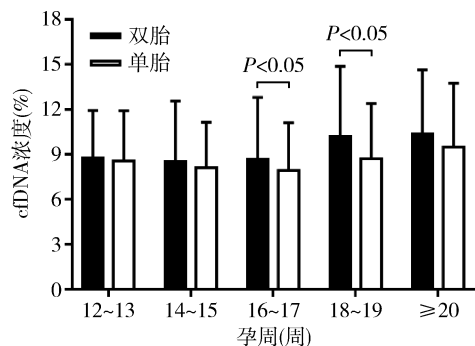


图2 不同采样孕周的双胎/单胎妊娠孕妇 cfDNA 浓度对比

表2 双胎/单胎妊娠孕妇 NIPT 建库成功率差异分析

项目	单胎	双胎	P	OR	95% CI
首次采血建库			<0.05	3.146	1.380 ~ 7.173
成功[n(N)]	3622(3656)	237(244)			
成功率(%)	99.07	97.13			
二次采血建库			>0.05	-	-
成功[n(N)]	17(34)	4(7)			
成功率(%)	50.00	57.14			
检测成功			>0.05	-	-
成功[n(N)]	3639(3656)	241(244)			
成功率(%)	99.54	98.77			

讨 论

中国是出生缺陷高发国之一,出生缺陷发生率为5.6%,每年新增出生缺陷数约为90万例,出生缺陷儿给社会和家庭带来了巨大的经济负担和精神压力^[9]。染色体病是造成出生缺陷的重要原因之一,患者常常具有智力低下、器官畸形及性功能低下等一系列临床症状。研究表明,双胎妊娠发生染色体异常和严重并发症的风险明显高于单胎妊娠^[10]。传统单胎妊娠的产前筛查是通过血清学生化指标和超声影像学筛查评估胎儿染色体异常的风险性,但双胎妊娠母体血清生化指标水平受多个胎儿的影响,异常值被正常胎儿平均,使其产前筛查方式更具有复杂性,其血清学生化筛查的准确性不如单胎准确,所以临床多采取侵入性产前诊断的方式检测胎儿染色体作为双胎妊娠产前诊断的金标准。不同于传统血清学筛查,NIPT技术具有无创性、检出率高、敏感度高等特点,对双胎妊娠孕妇也有较高的筛查价值,明显优于传统筛查方法。

NIPT检测流程较为复杂,因采样失败、cfDNA浓度低、生物信息学等测序数据质控不合格等均能造成检测失败。其中cfDNA浓度是影响NIPT检测的成

3656例单胎妊娠孕妇中,34例因cfDNA浓度<3.5%首次采血建库检测不合格,其成功率为99.07%。经知情同意后对首次采血建库不合格孕妇行二次采血建库,17例检测成功,其成功率为50.00%。

双胎妊娠孕妇NIPT首次采血建库成功率低于单胎($P<0.05$),单胎妊娠孕妇NIPT首次采血建库成功的可能性高于双胎;双胎妊娠孕妇二次采血建库成功率与单胎比较,差异无统计学意义($P>0.05$);双胎与单胎妊娠孕妇NIPT总体成功率比较,差异无统计学意义($P>0.05$,表2)。

功率和准确性重要因素。为保证NIPT的成功率和准确性,cfDNA浓度至少达到4%的最低检测浓度标准。孕妇外周血中cfDNA,是因胎儿细胞通过胎盘进入母体血循环被母体免疫系统破坏,致其DNA以游离的形式存在于母体外周血中。有研究分析,与单胎比较,双胎妊娠孕妇NIPT的cfDNA检测失败受孕妇年龄、孕周、双绒毛膜双胎等因素影响^[11,12]。

目前,我国依据《中华人民共和国母婴保健法实施办法》、《产前诊断技术管理办法》及《双胎妊娠产前筛查与诊断技术规范(2021年更新版)》等要求,无论单胎或双胎妊娠,产前筛查的年龄仍按照其适用指征,预产期年龄 ≥ 35 岁的孕妇推荐进行产前诊断^[13~15]。有研究发现,31岁的双胎妊娠孕妇与35岁单胎妊娠孕妇胎儿患染色体非整倍体三体综合征的风险一致,建议修正双胎妊娠产前诊断的年龄^[16]。2000年,加拿大妇产科医师协会(Society of Obstetricians and Gynaecologists of Canada, SOGC)发布建议32岁以上的双绒毛膜双胎妊娠孕妇进行产前诊断^[17]。根据本研究数据分析显示,双胎妊娠孕妇NIPT检测筛查年龄不同于单胎,主要集中在25~34岁,而单胎妊娠孕妇的筛查年龄主要集中在30~39

岁。虽然双胎/单胎妊娠的筛查年龄分布不同,但不同筛查年龄组双胎妊娠孕妇的 cfDNA 浓度与单胎比较差异无统计学意义,除外 ≥ 40 岁组,其他不同年龄组 cfDNA 浓度均可达到 8% 以上,25~29 岁组其 cfDNA 浓度均值达到 9% 以上。所以建议对于双胎妊娠孕妇可根据其产前诊断等临床指征及考虑其个人意愿等情况,可选择适当提前 NIPT 的筛查年龄,以保证 NIPT 检测的成功率和准确性。

除外个体差异,一般来讲孕妇外周血中 cfDNA 浓度会随着其孕周增加而增加,与采样孕周呈正相关^[18]。本研究中,NIPT 检测双胎、单胎妊娠采样孕周均集中在 12~19 周,其中 16~17 周占比最高;在不同采样孕周,双胎妊娠孕妇 cfDNA 浓度均高于单胎孕妇,在不同采样孕周组的 cfDNA 浓度均已经达到 8% 以上,达到 4% 的单胎最低检测浓度标准的 2 倍以上,且当采样孕周为 18 周及以上时,其 cfDNA 浓度均值达到 10% 以上,为单胎妊娠的同孕周组近 1.25 倍。故建议以临床指征为基础,对于双胎妊娠孕妇可适当延后采样孕周,保证 NIPT 检测的成功率和准确性。

有研究发现,NIPT 检测孕妇中因 cfDNA 浓度低而造成检测失败占 0.1%~6.1%,与单胎妊娠比较,双胎妊娠的 cfDNA 检测失败率升高^[11,19]。本研究因 cfDNA 浓度低于 3.5% 引起双胎妊娠孕妇 NIPT 的失败率为 1.23%,符合 2016 年我国颁布的《国家卫生计生委办公厅关于有序开展孕妇外周血胎儿游离 DNA 产前筛查与诊断工作的通知》对检测失败 $<5\%$ 的要求。本研究中,而双胎妊娠 NIPT 检测首次采血建库成功率低于单胎($P<0.05$),单胎妊娠孕妇 NIPT 检测首次采血建库成功的可能性高于双胎;经过二次采血后,双胎与单胎妊娠孕妇 NIPT 总体成功率分别为 99.54% 和 98.77%,差异无统计学意义($P>0.05$),说明对于双胎妊娠,可通过适当延后采样孕周,提高检测的 cfDNA 浓度以提高 NIPT 的成功率。

目前临床应用双胎妊娠 NIPT 检测多是采用孕妇外周血中胎儿游离的总 DNA 含量作为 cfDNA 浓度来进行评估,无法分辨出双胎中单一 cfDNA 所占的比例。但因双胎妊娠的遗传的复杂性,单卵双胎因其相同的遗传背景,适用于 4% 的单胎最低检测浓度标准;而双卵双胎的遗传物质不一致,而孕妇外周血总游离 DNA 含量达到最低检测 4% 的浓度标准时,结果可能被所占比例较大的胎儿结果所掩盖,造成假阳

性或假阴性的结果^[20]。鉴于双胎妊娠特殊性和其 NIPT 检测的局限性,应用 NIPT 作为产前筛查检测时,应充分知情告知双胎妊娠孕妇其技术不能检测所有染色体的异常,不能替代侵入性产前诊断。同时,双胎妊娠孕妇 cfDNA 个体差异较大,可根据其临床指征,对双胎妊娠孕妇的 NIPT 筛查年龄及孕周做出适宜选择,适当提前 NIPT 筛查年龄、延后采样孕周,以减少因 cfDNA 浓度不足造成 NIPT 的检测失败。

参考文献

- 1 Tan Y, Gao Y, Lin G, *et al.* Noninvasive prenatal testing (NIPT) in twin pregnancies with treatment of assisted reproductive techniques (ART) in a single center[J]. *Prenat Diagn*, 2016, 36(7): 672–679
- 2 Audibert F, Gagnon A. No. 262 – prenatal screening for and diagnosis of aneuploidy in twin pregnancies[J]. *J Obstet Gynaecol Can*, 2017, 39(9): e347–e361
- 3 Evans MI, Wapner RJ. Invasive prenatal diagnostic procedures 2005 [J]. *Semin Perinatol*, 2005, 29(4): 215–218
- 4 Sarno L, Revello R, Hanson E, *et al.* Prospective first – trimester screening for trisomies by cell – free DNA testing of maternal blood in twin pregnancy [J]. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2016, 47(6): 705–711
- 5 Sadlecki P, Grabiec M, Walentowicz P, *et al.* Why do patients decline amniocentesis? Analysis of factors influencing the decision to refuse invasive prenatal testing[J]. *BMC Pregnancy Childbirth*, 2018, 18(1): 174
- 6 Sieroszewski P, Wielgos M, Radowski S, *et al.* Cell – free fetal DNA testing in prenatal diagnosis: recommendations of the Polish Gynecological Society and the Polish Human Genetics Society[J]. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2017, 214: 190–191
- 7 Galeva S, Konstantinidou L, Gil MM, *et al.* Routine first – trimester screening for fetal trisomies in twin pregnancy: cell – free DNA test contingent on results from combined test[J]. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2019, 53(2): 208–213
- 8 McKenna T, Ryan A, Krinshpun S, *et al.* Fetal fraction – based risk algorithm for non – invasive prenatal testing: screening for trisomies 13 and 18 and triploidy in women with low cell – free fetal DNA[J]. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2019, 53(1): 73–79
- 9 中华人民共和国卫生部. 中国出生缺陷防范报告 [EB/OL]. (2012–9–12) [2021–08–05]. http://www.gov.cn/gzdt/2012-09/12/content_2223371.htm
- 10 Wei J, Wu QJ, Zhang TN, *et al.* Complications in multiple gestation pregnancy: a cross – sectional study of ten maternal – fetal medicine centers in China[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(21): 30797–30803
- 11 Curnow KJ, Wikins – Haug L, Ryan A, *et al.* Detection of triploid, molar, and vanishing twin pregnancies by a single – nucleotide polymorphism – based noninvasive prenatal test[J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2015, 212(1): 79, e1–e9

- 4 Baskaran S, Finelli R, Agarwal A, *et al.* Diagnostic value of routine semen analysis in clinical andrology[J]. *Andrologia*, 2020, 53(2): e13614
- 5 许超. 哪些生活方式会导致男性不育[J]. *中国生殖健康*, 2019, 1: 23
- 6 Green A, Barak S, Shine L, *et al.* Exposure by males to light emitted from media devices at night is linked with decline of sperm quality and correlated with sleep quality measures[J]. *Chronobiol Int*, 2020, 37(3): 414–424
- 7 胡海翔, 谢亚兰, 徐少强, 等. 某部气虚体质雷达作业人员精液质量分析[J]. *人民军医*, 2015, 58(10): 1172–1173
- 8 陈欣欣, 寸金涛, 李霖华. 昆明市 1661 例不育男性精液质量分析[J]. *云南医药*, 2015, 36(1): 25–27
- 9 薛丹丹, 刘萍, 马骏龙, 等. 从 4340 份精液检查结果分析探讨不育的主要因素[J]. *武警医学*, 2016, 27(5): 444–446
- 10 刘冰, 林志远. 佛山地区 2433 例不育男性精液质量分析[J]. *广东医学*, 2016, 37(S1): 144–146
- 11 吴山强, 杨怡艳. 桂东南地区 1918 例男性精液质量结果分析[J]. *检验医学与临床*, 2019, 16(20): 3016–3018
- 12 Kumtepe Y, Yakin K, Kahraman S, *et al.* Male age is not an independent factor to affect the outcome of assisted reproductive techniques[J]. *Int J Androl*, 2003, 26(3): 161–165
- 13 王港, 张尊月, 王华伟, 等. 云南地区 7046 例男性精液质量和年龄关系的探讨[J]. *中国优生与遗传杂志*, 2019, 27(8): 1007–1009
- 14 应俊, 姚德鸿, 张庆华. 血清睾酮, 游离睾酮, 双氢睾酮浓度与男性年龄关系的研究[J]. *中国男科学杂志*, 2000, 14(1): 13–15
- 15 侯晓鸿, 郝卫东. 丘脑–垂体–性腺轴调节睾酮合成的研究进展[J]. *癌变·畸变·突变*, 2018, 30(6): 483–485
- 16 李江源, 郭爱岩. 睾酮对下丘脑—垂体的反馈调节作用[J]. *男性学杂志*, 1992, 1: 6–8
- 17 吴励梅, 李林. 精子形态与活动力的相关性及其在男性不育症中的诊断意义[J]. *中国医药指南*, 2011, 9(3): 94–95
- 18 Anamthakmakula P, Winuthayanon W. Mechanism of semen liquefaction and its potential for a novel non–hormonal contraception[J]. *Biol Reprod*, 2020, 103(2): 411–426
- 19 梁巍, 朱华. 精液不液化在男性不育症中的检测结果分析[J]. *中国实用医刊*, 2013, 40(12): 63–64
- 20 张书来, 戴宁. 复方牛冬颗粒治疗慢性前列腺炎 30 例临床观察[J]. *甘肃中医药大学学报*, 2020, 1: 92–94
- 21 韩艳荣, 魏敏敏, 韩颜华, 等. 液化种子汤治疗精液不液化症的临床观察[J]. *世界最新医学信息文摘*, 2019, 19(28): 180–181
- 22 饶利强, 廖锦先, 麦惠洪, 等. 643 例男性不育患者精液液化状况分析[J]. *中国当代医药*, 2011, 18(26): 78–79
- 23 罗胜萍, 韩武红, 刘自刚. 精液 pH 值与精液液化异常关系探讨[J]. *国际检验医学杂志*, 2009, 1: 57
- 24 杨运运, 徐计秀, 王璟琦, 等. 精液液化程度与精子活力、活动率、精子密度及 pH 值的研究分析[J]. *中国医疗前沿*, 2010, 5(23): 66–67
- 25 赵桂馨, 刘敬如, 安国瑞. 精液 pH 值与黏稠度及液化时间的关系[J]. *中国误诊学杂志*, 2006, 6(21): 4151–4152
- 26 苏宁, 夏薇, 王维, 等. 精液黏度对精液质量的影响及相关因素[J]. *广东医学*, 2010, 31(5): 578–579

(收稿日期: 2021–08–13)

(修回日期: 2021–09–07)

(上接第 49 页)

- 12 Lin Y, Liang D, Li H, *et al.* Two factors affecting the success rate of the second non–invasive prenatal screening after initial no–call result: experience from a single tertiary center in China[J]. *Chin Med J (Engl)*, 2021, 134(12): 1416–1421
- 13 中华人民共和国国务院. 中华人民共和国母婴保健法实施办法[EB/OL]. (2017–11–17) [2021–08–05]. <http://www.nhc.gov.cn/fzs/s3576/201808/1d19f7a4258243598486ba1e3dda4338.shtml>
- 14 中华人民共和国卫生部. 产前诊断技术管理办法[EB/OL]. (2003–05–01) [2021–08–05]. <http://www.nhc.gov.cn/wjw/bmgz/200804/1787a65fde4c404ca60c341ab1fd6381.shtml>
- 15 中国妇幼保健协会双胎妊娠专业委员会. 双胎妊娠产前筛查与诊断技术规范(2021 年更新版)[J]. *中国实用妇科与产科杂志*, 2021, 37(3): 312–316
- 16 Rodis JF, Egan JF, Craffey A, *et al.* Calculated risk of chromosomal abnormalities in twin gestations[J]. *Obstet Gynecol*, 1990, 76(6): 1037–1041
- 17 Society of Obstetricians and Gynaecologists of Canada. Management of twin pregnancies(Part 1), SOGC Consensus Statement No.91, July 2000[J]. *JSOGC*, 2000, 28(8): 519–529
- 18 Cheng Y, Lu XR, Tang JX, *et al.* Performance of non–invasive prenatal testing for foetal chromosomal abnormalities in 1048 twin pregnancies[J]. *Mol Cytogenet*, 2021, 14(1): 32
- 19 Gil MM, Accurti V, Santacruz B, *et al.* Analysis of cell–free DNA in maternal blood in screening for aneuploidies: updated meta–analysis[J]. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2017, 50: 302–314
- 20 Boyle B, Morris JK, McConkey R, *et al.* Prevalence and risk of Down syndrome in monozygotic and dizygotic multiple pregnancies in Europe: implications for prenatal screening[J]. *BJOG*, 2014, 121(7): 809–820

(收稿日期: 2021–08–02)

(修回日期: 2021–08–23)