

陕西省安康地区新生儿苯丙酮尿症筛查实验切值的研究

张 玲, 姜家艳(陕西省安康市妇幼保健院新生儿筛查分中心检验室 725000)

【摘要】 目的 探索安康地区新生儿苯丙酮尿症筛查实验的切值。**方法** 以安康地区出生的新生儿为筛查对象,于出生后 48~72 h,充分哺乳 6 次后采取足跟血,应用 PerkinElmer Wallac 1420 Victor2 多标记免疫测定仪检测标本中苯丙氨酸含量。**结果** 根据安康地区 2010 年 6 月至 2011 年 1 月 10 390 例新生儿苯丙酮尿症筛查的数据,确定安康地区新生儿苯丙酮尿症的筛查切值为 121.39 $\mu\text{mol/L}$ 。**结论** 安康地区新生儿苯丙酮尿症的筛查切值略低于新生儿疾病筛查技术规范(2010 年版)规定的参考切值 122.00 $\mu\text{mol/L}$ 和试剂盒初始的切值 128.10 $\mu\text{mol/L}$ 。为降低假阴性率,筛查实验切值修改为 121.39 $\mu\text{mol/L}$ 。

【关键词】 苯丙酮尿症; 新生儿; 切值; 免疫荧光分析

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2011.16.026 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2011)16-1969-02

Study on the cut-off value of screening test for phenylketonuria of neonate in Ankang area of Shanxi province ZHANG Ling, JIANG Jia-yan (Neonatal Screening Central Laboratory of Maternal and Child Health Hospital of Ankang City, Shanxi 725000, China)

【Abstract】 Objective To study the cut-off value of screening test for phenylketonuria (PKU) of neonate in Ankang area. **Methods** The newborns in Ankang region were chosen as the screening objects. The heel blood was collected from 10 390 newborns after sufficient suckling when they were 48—72 hours old. The concentrations of phenylalanine in the samples were detected by PerkinElmer Wallac 1420 Victor2 Multi—analyte assay. **Results** A total of 10 390 newborns were screened from Jun 2010 to Jan 2011, and the cut-off value of phenylalanine of neonatal screening for PKU was 121.39 $\mu\text{mol/L}$ in Ankang region. **Conclusion** The cut-off value of phenylalanine of neonatal screening for PKU in Ankang region is slightly lower than the cut-off value 122.0 $\mu\text{mol/L}$ that was provided in neonatal screening specification (2010 edition) and the initial value in the manual of the reagent kit 128.10 $\mu\text{mol/L}$. For decreasing the false-negative rate of neonatal screening for PKU, the cut-off value is reduced to 121.39 $\mu\text{mol/L}$.

【Key words】 phenylketonuria; neonate; cut-off value; immunofluorescence assay

苯丙酮尿症(phenylketonuria, PKU)是一种先天性氨基酸代谢异常所引起的疾病,因体内先天性苯丙氨酸羧化酶缺陷而引起的苯丙氨酸(phe)代谢障碍^[1-2]。体内积累的苯丙氨酸和异常代谢产物对神经系统产生损害,导致患儿脑发育落后,智力低下,给社会和家庭造成很大危害。因此加强新生儿缺陷筛查,使其在临床症状尚未表现前或表现较轻微时得以早期诊断,从而早期进行治疗,避免不可逆的重要脏器损害及脑发育落后。筛查切值作为筛查工作中非常重要的参数,有着非常重要的意义。而筛查切值随着种族、地域和实验方法的不同而不同^[3-4]。因此,确定符合安康当地人群的筛查切值成为筛查工作的首要问题。就此问题,选取 2010 年 6 月 2 日至 2011 年 1 月 27 日 10 390 例新生儿检测的数据,进行安康地区新生儿苯丙酮尿症筛查实验切值的探索工作。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取安康地区自 2010 年 6 月 2 日至 2011 年 1 月 27 日的新生儿共 10 390 例,血片采集由各级医院经过新生儿筛查中心培训的采血员完成。出生 72 h 经 6 次以上母乳喂养的新生儿,足跟采血,让血液自然流出,滴于 S&S903 专用滤纸上,使血液自然渗入至背面,形成 3 个直径为 8 mm 的血斑,室温下自然干燥,规范填写姓名、地址等各栏内容后放入塑料袋置 2~8 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存,10 d 内送至新生儿筛查中心。

1.2 实验方法 采用 PerkinElmer Wallac 1420 Victor 2 多标

记免疫测定仪及其新生儿苯丙氨酸检测试剂盒 NP-1000/NP-4000,严格按说明书操作。(1)用打孔钳从标准品和质控品(试剂盒总体供给)以及送检的血斑上打下直径为 3.2 mm 血片,放入 96 孔 V 形底的微孔板对应的微孔中;(2)向微孔板中缓慢地加入萃取溶液 15 μL ,轻拍微孔板使之混匀;(3)将加入血片和试剂的微孔板盖上盖子,放入冰箱在 2~8 $^{\circ}\text{C}$ 条件下孵育 18 h;(4)从冰箱中将微孔板取出,打开盖子,向微孔板中缓慢地加入去离子水 40 μL ;(5)将 25 μL 的微孔内容物从 V 形底的微孔板中转移到白色的平底微孔板;(6)向白色的平底微孔板中加入 PKU 试剂 50 μL ,轻拍微孔板使之混匀,贴上封板膜,60 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育 60 min;(7)孵育后,去掉封板膜,加入铜试剂 200 μL ,轻拍微孔板使之混匀,室温下孵育 60 min;(8)将白色平底微孔板放入 PerkinElmer Wallac 1420 多标记免疫测定仪中,测定每个微孔中荧光值,使用 Multicalc 数据处理软件进行数据的评估和分析。

1.3 统计学处理 采用百分位数法,根据健康人样本数据,按照选定的百分范围计算相应的百分位数作为正常值范围的界值,采用 99% 可信度。

2 结 果

2.1 苯丙氨酸水平分布情况见表 1。

2.2 新生儿苯丙氨酸水平统计学分析 根据 10 390 例新生儿苯丙氨酸浓度计算得苯丙氨酸浓度的均值为 71.31 $\mu\text{mol/L}$

L,标准差为 21. 96 $\mu\text{mol/L}$,中位数为 70. 76 $\mu\text{mol/L}$,采用 95%可信度时的切值为 106. 75 $\mu\text{mol/L}$,采用 97. 5%可信度时的切值为 113. 89 $\mu\text{mol/L}$,采用 99%可信度时的切值为 121. 39 $\mu\text{mol/L}$ 。

表 1 新生儿人群血片苯丙氨酸水平分布情况				
苯丙氨酸含量($\mu\text{mol/L}$)	<i>n</i>	构成比%	累积频数	累积频率%
0. 0~	25	0. 24	25	0. 24
12. 20~	98	0. 94	123	1. 18
24. 40~	289	2. 78	412	3. 97
36. 60~	907	8. 73	1319	12. 69
48. 80~	1 847	17. 78	3 166	30. 47
61. 00~	2 496	24. 02	5 662	54. 49
73. 20~	2 242	21. 58	7 904	76. 07
85. 40~	1 441	13. 87	9 345	89. 94
97. 60~	699	6. 73	10 044	96. 67
109. 80~	258	2. 48	10 302	99. 15
122. 00~	33	0. 32	10 335	99. 47
134. 20~	26	0. 25	10 361	99. 72
146. 40~	7	0. 07	10 368	99. 79
158. 60~	7	0. 07	10 375	99. 86
170. 80~	5	0. 05	10 380	99. 90
183. 00~	4	0. 04	10 384	99. 94
195. 20~	0	0. 00	10 384	99. 94
207. 40~	1	0. 01	10 385	99. 95
219. 60~	1	0. 01	10 386	99. 96
231. 80~	2	0. 02	10 388	99. 98
244. 00~	0	0. 00	10 388	99. 98
378. 20~	1	0. 01	10 389	99. 99
658. 80~	1	0. 01	10 390	100. 00

3 讨 论

PKU 是常见的氨基酸代谢病,属于常染色体隐性遗传疾病,发病率因种族不同而变化,中国平均发病率为 1/16 500。其发病机制为由于肝脏苯丙氨酸羟化酶(phenylalaninehydroxylase,PAH)缺乏或活性降低,使得苯丙氨酸不能正常的转变成酪氨酸,导致苯丙氨酸通过旁路转化为苯丙酮酸,在体内苯丙氨酸和其酮酸蓄积,从而影响中枢神经系统发育,引起患儿严重智能发育落后。PKU 的典型症状出现后诊断并不困难,但是已经失去了最好的治疗时机^[5]。早筛查、早治疗对患儿智能发育水平非常重要,PKU 患儿治疗的越早,效果越好^[6]。最好在出生后 1 个月内起始治疗,早期治疗是改变疾病结局的关键因素^[7]。

筛查切值是筛查工作中诊断和治疗监测的重要依据。筛查切值确定的正确与否,直接影响筛查工作质量。切值过高增加筛查的漏检概率,过低增加假阳性率。

本文研究结果表明,安康地区新生儿 PKU 筛查实验切值,在 99%可信度时,为 121. 39 $\mu\text{mol/L}$ 。由于 PKU 发病率受人种、地域等因素影响各有不同,在中国 PKU 发病率有北高南低的特点^[8],新生儿 PKU 筛查中,血苯丙氨酸浓度阳性切值根据实验室及试剂盒而定,一般大于 120 $\mu\text{mol/L}$ 为筛查阳性^[9],因此,本次安康地区新生儿苯丙酮尿症筛查实验切值的研究是十分必要的。PerkinElmer Wallac PKU 筛查试剂盒的初始切值为 128. 10 $\mu\text{mol/L}$,此数据由在芬兰土尔库 PerkinElmer Life and Analytical Sciences,Wallac Oy 公司完成。结果表明,安康地区新生儿 PKU 筛查的实验切值低于试剂盒规定的切值,作者认为试剂盒初始切值均高于安康地区新生儿 99%的可信度,会增加筛查结果中的假阴性率,增加漏检的概率,故筛查实验切值修改为 121. 39 $\mu\text{mol/L}$ 。凡新生儿 PKU $\geq$ 121. 39 $\mu\text{mol/L}$ 的血样应进行复查,仍高者需要进一步确诊。

参考文献

[1] 林兆青,戴自英.实用内科学[M].第7版.北京:人民卫生出版社,1981:2407-2415.

[2] 顾学范,陈瑞冠.中国新生儿筛查现状[C].上海中日新生儿疾病筛查研讨会论文集,2000:14-15.

[3] 李璞.医学遗传学[M].北京:中国协和医科大学出版社,1999:159.

[4] 牟凯,李俊玲,安新业.淄博市新生儿中甲状腺功能低下与苯丙酮尿症筛查实验切值的探索[J].滨州医学院学报,2005,8(28):4.

[5] 王慧梅,师晓红.早期综合家庭干预对高危新生儿神经心理发育影响的研究[J].中国围产医学杂志,2004,7(1):37-39.

[6] 李卓影,王伟.42例苯丙酮尿症患者早期诊断治疗与智能发育[J].中国生育健康杂志,2010,21(4):195-197.

[7] 张玉敏,秦金莉.43例苯丙酮尿症患者低苯丙氨酸饮食的监测分析[J].中国妇幼保健研究,2009,9(1):52-53.

[8] 顾学范,王治国.中国580万新生儿苯丙酮尿症和先天性甲状腺功能减低症的筛查[J].中华预防医学杂志,2004,38(2):99-102.

[9] 刘金龙,孙明强,田维兵,等.潍坊市新生儿疾病筛查苯丙氨酸切值的探讨[J].中国自然医学杂志,2010,12(1):439-442.

(收稿日期:2011-02-23)

欢迎投稿

欢迎订阅