

# 应用 MCV 及 Hb 电泳筛查儿童 $\alpha$ -珠蛋白生成障碍性贫血及基因型分析

梁福初<sup>1</sup>, 唐芳玫<sup>2</sup> (1. 广西壮族自治区南宁市江南片妇幼保健院检验科 530200; 2. 广西中医学院附属瑞康医院检验科, 南宁 530011)

**【摘要】** 目的 调查分析邕宁区儿童  $\alpha$ -珠蛋白生成障碍性贫血的检出率及基因型特点。方法 应用平均红细胞容积(MCV)及血红蛋白(Hb)电泳相结合的方法对 1 146 例儿童进行  $\alpha$ -珠蛋白生成障碍性贫血筛查,对筛出的阳性例数进行  $\alpha$ -珠蛋白生成障碍性贫血基因型检测。结果 1 146 例中,筛出阳性 152 例,检出率为 13.26%;152 例中,基因确诊 97 例,血液学筛查与基因诊断的符合率为 63.82%(97/152),主要基因型为 -SEA/ $\alpha\alpha$ (67.01%)、 $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ (12.37%)、 $-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$ (7.22%)、 $\alpha^{CS}\alpha/\alpha\alpha$ (6.19%)及  $\alpha^{QS}\alpha/\alpha\alpha$ (1.03%)。结论 该地区儿童  $\alpha$ -珠蛋白生成障碍性贫血检出率较高,应加强该地区儿童及其他人群  $\alpha$ -珠蛋白生成障碍性贫血的血液学筛查以及以 -SEA/ $\alpha\alpha$  为重点的常见基因型诊断。

**【关键词】**  $\alpha$ -珠蛋白生成障碍性贫血; 平均红细胞体积; 筛查; 基因诊断

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2011.19.058 文献标志码: B 文章编号:1672-9455(2011)19-2401-02

$\alpha$ -珠蛋白生成障碍性贫血,由于  $\alpha$ -珠蛋白基因缺失或突变导致  $\alpha$ -珠蛋白合成障碍而引起的遗传性溶血性疾病<sup>[1]</sup>。由于目前尚无特异疗法,许多重症患者只能靠输血维系生命,从而给家庭及社会带来沉重负担。广西是珠蛋白生成障碍性贫血的高发区之一, $\alpha$ -珠蛋白生成障碍性贫血基因的携带率约为 15%<sup>[2]</sup>。目前,加强  $\alpha$ -珠蛋白生成障碍性贫血基因携带人群的筛查及基因诊断是控制  $\alpha$ -珠蛋白生成障碍性贫血的最有效方法。本研究对 1 146 例儿童进行  $\alpha$ -珠蛋白生成障碍性贫血的血液学筛查,并对筛出的阳性例数进行基因型诊断,现报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 本组 1 146 例,为 2009 年 5 月至 2010 年 12 月本院体检或就诊的邕籍儿童,男 756 例,女 490 例,年龄 7 个月至 12 岁。

### 1.2 方法

**1.2.1 筛查方法及标准** (1)平均红细胞容积(MCV):采用日本光电 6318K 血细胞分析仪检测,正常参考值为 82~95 fL,取  $MCV \leq 70$  fL 为截断值;(2)血红蛋白(Hb)电泳:用琼脂糖凝胶电泳分离 Hb 各成分,再用扫描仪扫描各组分含量,HbA2 正常参考值 1.5%~3.5%,取  $HbA2 < 3.5\%$  为截断值。(3)筛查的阳性标准为满足  $MCV \leq 70$  fL 且  $HbA2 < 3.5\%$ 。

**1.2.2 基因型检测** 应用缺口 PCR 法检测 3 种常见的缺失型:-SEA、 $-\alpha^{3.7}$  及  $-\alpha^{4.2}$ ,应用反向点杂交法测常见的 2 种非缺失型:HbCS 及 HbQS 型,检测试剂均购于深圳创益生物科技有限公司。

## 2 结果

**2.1 MCV 及 Hb 电泳筛查** 在 1 146 例中,有 206 例  $MCV \leq 70$  fL,经 Hb 电泳筛查后,有 1 080 例  $HbA2 < 3.5\%$ (表 1);在  $MCV \leq 70$  fL 的 206 例中,有 152 例  $HbA2 < 3.5\%$ 。根据判定标准,筛出阳性例数 152 例,需进一步基因型确诊。

表 1 MCV 及 Hb 电泳筛查结果

筛查指标	筛查例数	阳性例数	阴性例数	正常参考值
MCV(fL)	1 146	206	940	82.0~95.0
HbA2(%)	1 146	1 080	66	1.5~3.5

**2.2 基因型检测** 152 例经基因型检测后,明确诊断 97 例(表 2),血液学的阳性检出率与基因诊断的符合率为 63.82%(97/152)。

表 2 97 例  $\alpha$ -珠蛋白生成障碍性贫血确诊者的基因型构成情况

基因型	检出例数	检出率(%)
-SEA/ $\alpha\alpha$	65	67.01
$-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$	12	12.37
$-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$	7	7.22
$\alpha^{CS}\alpha/\alpha\alpha$	6	6.19
-SEA/ $-\alpha^{3.7}$	2	2.06
-SEA/ $-\alpha^{4.2}$	2	2.06
$-\alpha^{3.7}/-\alpha^{3.7}$	1	1.03
$-\alpha^{3.7}/-\alpha^{4.2}$	1	1.03
$\alpha^{QS}\alpha/\alpha\alpha$	1	1.03

## 3 讨论

$\alpha$ -珠蛋白生成障碍性贫血目前尚无特异性疗法,加强  $\alpha$ -珠蛋白生成障碍性贫血基因携带人群的筛查以实施早期干预是目前控制本病的最有效方法。 $\alpha$ -珠蛋白生成障碍性贫血的检测方法很多,其中基因型检测是公认的确证方法,但其较高的技术条件要求及昂贵的检测费用制约了其在临床的普及应用,相对而言,血液学检测(MCV、Hb 电泳等)操作简便且费用较低,目前仍是临床检测  $\alpha$ -珠蛋白生成障碍性贫血的常用方法。目前,MCV 已被广泛地应用于  $\alpha$ -珠蛋白生成障碍性贫血的筛查,但其特异性不高,需联合 Hb 电泳等方法以提高检测的灵敏度<sup>[3]</sup>。

本研究中,1 146 例经 MCV 及 Hb 电泳筛查后,检出阳性 152 例,检出率 13.26%(152/1 146),低于南宁市区(15.61%)及百色市(15%)人群的检出率,但高于广州市人群(8.56%)的检出率<sup>[1,4-5]</sup>。产生这种差异的原因,作者认为可能  $\alpha$ -珠蛋白生成障碍性贫血基因携带者的人群或地区分布差异有关。在 152 例中,基因确诊 97 例,据此可知 MCV 与 Hb 电泳的联合检出率与基因诊断的符合率为 63.82%(97/152),表明 MCV 与 Hb 电泳是筛查  $\alpha$ -珠蛋白生成障碍性贫血的有效方法。从表 2 可知,97 例确诊者携带的主要  $\alpha$ -珠蛋白生成障碍性贫血基因型为 -SEA/ $\alpha\alpha$  (67.01%)、 $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$  (12.37%)、 $-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$  (7.22%)、 $\alpha^{CS}\alpha/\alpha\alpha$  (6.19%),提示 -SEA 基因型占主导地位,应是  $\alpha$ -珠蛋白生成障碍性贫血基因检测的重点,原因在于携带 -SEA/ $\alpha\alpha$  基因型的个体与其他基因型个体之间的婚配将会大大增加下一代患 HbH 病或巴氏水肿胎儿综合征的概率。 $-\alpha^{3.7}$

和- $\alpha^{4,2}$ 是继-SEA/ $\alpha\alpha$ 之后构成该地区 $\alpha$ -珠蛋白生成障碍性贫血基因携带者的两种常见缺失型基因型。目前已有的研究表明,- $\alpha^{3,7}$ 广泛地分布于非洲、地中海、东南亚及中国等国家或地区的人群中,并有很高的发生率,- $\alpha^{4,2}$ 主要分布于亚洲人群,但其发生频率普遍较低<sup>[1,6]</sup>。此外,本研究检出两种常见的非缺失型 $\alpha^{CS}/\alpha\alpha(6.19\%)$ 及 $\alpha^{QS}/\alpha\alpha(1.03\%)$ ,但基因携带率分别低于广西百色市 $\alpha$ -珠蛋白生成障碍性贫血人群的6.5%及1.1%<sup>[4]</sup>,这可能受到 $\alpha$ -珠蛋白生成障碍性贫血基因携带者的人群或地区分布差异等因素的影响,当然也可能与本研究样本量相对较小有关。

综上所述,研究表明,MCV联合Hb电泳是筛查儿童 $\alpha$ -珠蛋白生成障碍性贫血的有效方法,值得推广应用;血液学筛查的阳性病例应做基因型检测以提高 $\alpha$ -珠蛋白生成障碍性贫血检测的准确性,基因型检测应以-SEA基因型为重点,这对于提供准确的婚配遗传信息及实现优生优育都是十分必要的。

参考文献

[1] 陈萍.  $\alpha$ -地中海贫血的分子基础与临床研究现状[J]. 广西

医学,2004,26(5):619-621.

[2] 吕福通,谢丹尼,陈一君,等. 广西区计划生育服务网络开展地中海贫血干预经验[J]. 中国计划生育学杂志,2009,162(4):241-242.  
 [3] 何雅军,杨小华,马福广,等. 红细胞平均体积和脆性及血红蛋白电泳联合检测在地中海贫血诊断中的价值[J]. 中华检验医学杂志,2005,28(3):244-245.  
 [4] Pan HF, Long GF, Li Q, et al. Current status of thalassemia in minority populations in Guangxi, China [J]. Clin Genet, 2007, 71(5): 419-426.  
 [5] 黄钰君,伍绍国,区小冰,等. 儿童地中海贫血的发生率及发病基因分析[J]. 中国优生与遗传杂志,2007,15(6):28-29.  
 [6] 陈晨春,仇小强.  $\alpha$ -地中海贫血流行状况[J]. 中国妇幼保健,2008,24(6):858-859.

(收稿日期:2011-05-22)

# 原子吸收光谱仪测定血锌时不同进样位置致系统误差分析

邓通洋(浙江省瑞安市妇幼保健院检验科 325200)

**【摘要】 目的** 分析火焰原子吸收光谱仪测定锌(Zn)时不同水平进样位置所测结果存在的系统误差。**方法** 从儿童保健门诊的100例儿童静脉血标本中随机抽取20份标本,采用随机分组设计的方法,每份标本制成可以认为锌浓度相同的5份待测样品,然后随机分配到A、B、C、D、E5个进样点测定Zn的吸光度(OD)值,其中E点为对照点,标准液测定和空白液调零均在次位置进行,对5组数据进行方差分析。**结果** 除A点外,B、C、D3点与对照点E比较,差异均有统计学意义( $P < 0.01$ ),且与对照点E的OD值差总是为正数或者负数。**结论** 用火焰原子吸收光谱法测定全血锌时,同一样本在不同进样位置测定可能存在系统误差,测定时最好固定水平进样位置。

**【关键词】** 锌; 进样位置; 系统误差; 雾化器

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2011.19.059 文献标志码: B 文章编号: 1672-9455(2011)19-2402-02

锌(Zn)是很多酶的组成部分,人体内有200多种酶含锌,并为酶的活性所必需<sup>[1]</sup>,锌代谢紊乱也会影响儿童体格、智能的正常发育<sup>[2]</sup>。火焰原子吸收分光光度法因其灵敏度高,重复性好而成为目前临床实验室测定血液锌最常用的方法。某公司生产的原子吸收光谱仪具有光源一体化装置、多通道光学系统、无需样品前处理等诸多优点。但是在多年的操作观察中发现,同一样本由于水平进样位置不同所测结果会出现恒定的系统误差,现采用随机分组设计的方法来分析此类误差。

## 1 材料与方 法

**1.1 材料** 本院儿保门诊健康体检2~5岁儿童100例,采用BD公司的血液微量元素专用真空管采集静脉血,采用随机数字法随机抽取其中20管。

**1.2 仪器与试剂** 某原子吸收光谱仪,五元素复合阴极灯,空气压缩机压力为0.25 MPa,乙炔压力表为0.08 MPa,燃烧头和狭缝均为厂家固定值,雾化器雾化效果优,雾呈扇形;仪器配套用标准液(Zn浓度分别为0、0.15、0.30、0.45  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )和样品稀释液。

## 1.3 方 法

**1.3.1 样本处理** 对随机抽取的静脉血,每管用同一移液器准确吸取40  $\mu\text{L}$ 加入到1 mL专用稀释液中,制成可以认为锌浓度相同的5份待测样本,再采用随机数字法随机分配到A、

B、C、D、E5个处理组中,20管设计成20个区组。共制成100份样品,摇匀,待测。

**1.3.2 实验设计** 在操作平台水平面上选取A、B、C、D、E5个进样点,其中前4个点分别是一个18 cm $\times$ 9 cm的长方形的4个顶点;E点是长方形的对角线的交点,也是对照点(固定点),即标准液的测定和空白稀释液的校零也在此点进样。A、B、C、D、E5个处理组的各20个样品分别在相应字母的进样点进样。为了回避作标准曲线时出现的误差,结果均采用原始数据“吸光度值”来进行分析。

**1.3.3 仪器准备** 启动仪器,点击“自动能量平衡”,灯预热30 min后,调节各气体压力,按照仪器操作规程点火,燃烧头预热10 min,再次点击自动能量平衡到能量到100%。用去离子水清洗2 min。

**1.3.4 样品测定** 在E点上用浓度为0号的标准液校零,然后分别测定4个标准液,得到 $r = 0.999$ 的标准曲线。用空白稀释液在E点校零(每测定10个标本校零一次),再分别在5个进样位置测定5个处理组,得到吸光度值表1。

**1.3.5 统计学方法** 对100例门诊儿童同时进行全血Zn测定,吸光度值P-P图进行正态性检验,发现其近似正态分布,故可对5组数据用SPSS17.0进行随机区组设计的方差分析,测得数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,以 $P < 0.05$ 判断为差异有统计学意义。