

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2020.18.023

珠蛋白生成障碍性贫血成年女性 HbA2 筛查切值的建立

丁思意,石亮程,李寒梅,曾 果,贺 骏[△]

湖南省长沙市妇幼保健院遗传优生科,湖南长沙 410007

摘 要:目的 建立珠蛋白生成障碍性贫血成年女性全自动毛细管电泳法的血红蛋白 A2(HbA2)筛查切值。方法 收集该实验室 1 886 例成年女性 HbA2 筛查数据(包含 991 例 α -珠蛋白生成障碍性贫血、250 例 β -珠蛋白生成障碍性贫血及 645 例健康者),严格按照 C28-A3 指南要求,采用非参数方法分析非正态分布数据。结果 α -珠蛋白生成障碍性贫血和 β -珠蛋白生成障碍性贫血成年女性全自动毛细管电泳法 HbA2 筛查切值分别为 2.7% 和 3.7%。结论 根据实验室的检测方法建立珠蛋白生成障碍性贫血成年女性的 HbA2 切值,可以最大可能降低假阴性率,更好地完成国家珠蛋白生成障碍性贫血的防控工作。

关键词:珠蛋白生成障碍性贫血; HbA2 切值; 成年女性

中图法分类号:R556.5

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2020)18-2673-03

Establishment of HbA2 screening cut-off values in adult females with thalassemia

DING Siyi, SHI Liangcheng, LI Hanmei, ZENG Guo, HE Jun[△]

Department of Genetics and Eugenics, Changsha Municipal Maternal and Child Health Care Hospital, Changsha, Hunan 410007, China

Abstract: Objective To establish the cut-off values of HbA2 screening in adult females with thalassemia by the automatic capillary electrophoresis. **Methods** The HbA2 screening data in 1 886 adult females (including 991 cases of α -thalassemia, 250 cases of β -thalassemia and 645 healthy individuals) were collected in this laboratory. The non-normally distributed data were analyzed by adopting thenonparametric method strictly according to the C28-A3 guideline. **Results** The cut-off values of HbA2 screening in adult females with α -thalassemia and β -thalassemia by the automatic capillary electrophoresis were 2.7% and 3.7% respectively. **Conclusion** The established HbA2 cut-off values for adult females with thalassemia according to the laboratory test method can utmostly reduce the false negative rate and better complete the national prevention and control work of thalassemia.

Key words: thalassemia; cut-off values of hemoglobin A2; adult females

珠蛋白生成障碍性贫血是人体珠蛋白基因缺失或突变而引起的一种遗传性溶血性贫血,是世界上最常见的一种不完全显性单基因遗传病,暂无有效的治疗手段,目前国际公认的首选预防对策主要是通过婚前、孕前或产前筛查出静止型或轻型珠蛋白生成障碍性贫血夫妇,对重型珠蛋白生成障碍性贫血高危胎儿进行产前基因诊断,可有效减少该病重症患儿出生。HE 等^[1]研究显示长沙地区 α -珠蛋白生成障碍性贫血基因携带率为 2.57%, β -珠蛋白生成障碍性贫血基因携带率为 1.90%, α 及 β 两种基因都携带的携带率为 0.02%,由此可见,长沙也是珠蛋白生成障碍性贫血高发地之一。积极开展珠蛋白生成障碍性贫血筛查对控制重型珠蛋白生成障碍性贫血患儿的出生有重要意义,

同时有必要开展珠蛋白生成障碍性贫血防治知识教育及婚育年龄人群珠蛋白生成障碍性贫血筛查。

参考区间是实验室检测指标用于临床的首要条件^[2]。参考区间的参考人群是否具有代表性,是否真正适用于我国人群值得探讨^[3]。如果一种疾病的筛查切值未结合本实验室的实际情况,则会导致筛查结果的假阴性或者假阳性,给被筛查者造成不必要的精神、经济负担,引起医疗纠纷。本研究拟根据 C28-A3 指南^[4]要求,建立珠蛋白生成障碍性贫血成年女性全自动毛细管电泳法的血红蛋白 A2(HbA2)筛查切值,为临床医生提供更有价值的参考水平。

1 资料与方法

1.1 一般资料 回顾性研究长沙市妇幼保健院遗传

科 2014 年 1 月至 2018 年 12 月的珠蛋白生成障碍性贫血筛查及基因诊断检测结果。受检者均为女性,年龄 ≥ 18 岁。将已确诊的珠蛋白生成障碍性贫血的标本作为病例组,其中 α -珠蛋白生成障碍性贫血组 991 例, β -珠蛋白生成障碍性贫血组 250 例;正常组 645 例。纳入标准:平均红细胞体积(MCV) >80 fL,平均红细胞血红蛋白量(MCH) >27 pg,血红蛋白(Hb) >110 g/L,铁蛋白(FER) ≥ 10 μ g/L。排除标准:FER <10 μ g/L,患有肝脏疾病及肿瘤者。

1.2 检测方法 采用 Capillarys 2 型全自动毛细管电泳仪进行血红蛋白电泳,采用跨越断裂点的 PCR 技术(gap-PCR)和 PCR 技术结合反向膜杂交技术进行基因诊断。

1.3 统计学处理 所有数据使用 SPSS20.0 统计软件进行分析,数据的分布情况采用 Kolmogorov-Smirnov 检验进行判断, $P>0.05$ 时表明数据呈正态分布,反之则为非正态分布。离群值的剔除:采用 C28-A3 指南推荐的 Dixon 规则(1/3 规则)剔除离群值,即 D/R 值。D=极端观测值-一次极端观测值,R=最大值-最小值,若 D/R $>1/3$,考虑为离群值,应当剔除。临界值的建立:采用 C28-A3 指南推荐的非参数方法确定临界值。分别计算出临界值 90%的置信区间(CI)。

2 结 果

2.1 HbA2 离群值的剔除 根据 Dixon 规则剔除 3 组 HbA2 值的离群值,3 组数据 D/R 都小于 1/3,即

本研究无离群值。见表 1。

表 1 HbA2 极端值的判断结果				
组别	极端值	D(%)	R(%)	D/R
α -珠蛋白生成障碍性贫血组	最小值	0.3	4.9	0.06
	最大值	0.3	4.9	0.06
正常组	最小值	0.6	2.2	0.27
	最大值	0.4	2.2	0.18
β -珠蛋白生成障碍性贫血组	最小值	0.6	4.2	0.14
	最大值	0.1	4.2	0.02

2.2 HbA2 值的频数分布图 本研究中,经过 Kolmogorov-Smirnov 正态性检验显示,3 组数据均为非正态分布($P<0.05$)。

2.3 HbA2 水平的分布及临界值的 90%CI 根据 C28-A3 指南推荐的非参数方法确定临界值。 α -珠蛋白生成障碍性贫血 HbA2 的临界值仅参考上限有意义,采用第 95%位数确定临界值,临界值为 2.7%(90%CI:2.5%~2.8%);正常组 HbA2 的临界值参考上限和参考下限均有意义,采用第 2.5%和 97.5%位数确定参考下限和参考上限,分别为 2.4%(90%CI:2.3%~2.5%)、3.1%(90%CI:3.0%~3.2%); β -珠蛋白生成障碍性贫血 HbA2 的临界值仅参考下限有意义,采用第 5%位数确定临界值,临界值为 3.7%(90%CI:3.6%~4.1%)。HbA2 水平的分布见表 2。

表 2 HbA2 水平的分布

组别	标本数(n)	中位数(%)	$P_{2.5}$ (%)	P_5 (%)	P_{10} (%)	P_{90} (%)	P_{95} (%)	$P_{97.5}$ (%)
α -珠蛋白生成障碍性贫血组	991	2.3	1.8	2.0	2.1	2.5	2.7	2.8
正常组	645	2.4	2.4	2.5	2.5	3.0	3.0	3.1
β -珠蛋白生成障碍性贫血组	250	5.3	3.5	3.7	4.2	5.9	6.0	6.2

3 讨 论

长沙市大部分医疗机构进行珠蛋白生成障碍性贫血筛查的流程分为 3 步:(1)血常规检查,具体指标为 MCV 及 MCH,MCV <80 fL 和(或)MCH <27 pg 者;(2)血红蛋白电泳,HbA2 的参考区间为 2.5%~3.5%;(3)基因诊断,血红蛋白电泳异常者建议行珠蛋白生成障碍性贫血基因诊断。有研究结果显示全自动毛细管电泳法珠蛋白生成障碍性贫血患者检出率高于琼脂糖凝胶电泳^[5]及高效液相色谱法电泳^[6]。骆明勇等^[7]研究结果显示广东地区 α -珠蛋白生成障碍性贫血毛细血管电泳法的 HbA2 切值为

2.7%。李育敏等^[8]研究结果显示全自动毛细管电泳法筛查非静止型 α 珠蛋白生成障碍性贫血的 HbA2 切值为 2.7%。HAN 等^[9]研究表明贵州省育龄人群 HbA2 的参考区间为 2.3%~3.1%。 β -珠蛋白生成障碍性贫血男性、未孕女性及孕妇 HbA2 的筛查切值分别为 4.40%、3.75%、3.70%。霍梅等^[10]的研究显示深圳地区孕妇毛细血管电泳法筛查 α -、 β -珠蛋白生成障碍性贫血 HbA2 切值分别为 2.55%和 3.90%。由此可知,不同的检测方法及不同地区的珠蛋白生成障碍性贫血 HbA2 切值研究结果不统一。各实验室应根据实际情况严格按照美国临床实验室标准化协会(CLSI)所颁布的 C28-A3 指南《临床实验室如何确

定、建立和验证参考区间》里的要求建立合适的筛查切值。

本研究收集本实验室 1 886 例成年女性 HbA2 筛查数据(包含 991 例 α -珠蛋白生成障碍性贫血、250 例 β -珠蛋白生成障碍性贫血及 645 例健康者),严格按照 C28-A3 指南要求,采用非参数方法对总数据进行分析, α -珠蛋白生成障碍性贫血组的 HbA2 筛查切值为 2.7%,切值的 90%CI 为 2.5%~2.8%; β -珠蛋白生成障碍性贫血组的 HbA2 筛查切值为 3.7%,切值的 90%CI 为 3.6%~4.1%;正常组的 HbA2 筛查范围为 2.4%~3.1%,切值的 90%CI 分别为 2.3%~2.5%、3.0%~3.2%。本实验室检测结果表明, α -珠蛋白生成障碍性贫血和 β -珠蛋白生成障碍性贫血成年女性全自动毛细血管电泳法 HbA2 筛查切值分别为 2.7%和 3.7%。本实验室一直以来使用试剂说明书和仪器生产商推荐的 HbA2 参考区间(2.5%~3.5%),本实验室检测结果表明 α -珠蛋白生成障碍性贫血成年女性 HbA2 筛查切值为 2.7%,则 HbA2 值处在 2.5%~2.7%时可能存在 α -珠蛋白生成障碍性贫血的漏筛。孙艳虹等^[11]研究结果显示毛细血管电泳联合 MCV、MCH 筛查珠蛋白生成障碍性贫血具有较高的灵敏度和特异性。本实验室正常组 HbA2 筛查上限为 3.1%,HbA2 值在 3.1%~3.5%时,可以结合血常规结果综合考虑是否检测珠蛋白生成障碍性贫血基因。希望实验室能够重视此问题,建立符合本实验室的 HbA2 筛查切值,最大可能降低漏筛率,更好地完成国家珠蛋白生成障碍性贫血的防控工作。

参考文献

[1] HE J, ZENG H, ZHU L. Prevalence and spectrum of
(上接第 2672 页)
COPD[J]. Chest, 2015, 148(1): 159-168.
[8] 周子靖, 周爱媛, 赵熠阳, 等. 临床慢阻肺问卷(CCQ)在 COPD 患者中的应用[J]. 中国医师杂志, 2017, 19(11): 1623-1626.
[9] 刘成, 胡俊锋. COPD 急性加重危险因素的研究进展[J]. 国际呼吸杂志, 2017, 37(7): 520-526.
[10] 杨冬玲, 武俊红, 韩志娟. 健身气功八段锦在慢性阻塞性肺疾病稳定期肺康复中的疗效评价[J]. 中国全科医学,

thalassaemia in Changsha, Hunan province, China: discussion of an innovative screening strategy[J]. J Genet, 2017, 96(2): 327-332.
[2] JONES G, BARKER A. Reference intervals[J]. Clin Biochem Rev, 2008, 29(Suppl 1): 93-97.
[3] BOYD J C. Cautions in the adoption of common reference intervals[J]. Clin Chem, 2008, 54(2): 238-239.
[4] CLSI. Defining, establishing, and verifying reference intervals in the clinical laboratory: approved guideline-third edition; C28-A3[S]. Wayne, PA, USA: CLSI, 2010.
[5] 邓利胜. 全自动毛细管电泳系统在地中海贫血筛查中的应用[J]. 数理医药学杂志, 2019, 32(12): 1768-1769.
[6] 廖玲. 毛细管电泳系统在地中海贫血筛查中的临床应用[J/CD]. 临床检验杂志(电子版), 2019, 8(3): 41-42.
[7] 骆明勇, 王雄虎, 郭浩. 确定血红蛋白 A2 筛查 α 地中海贫血临界值的方法探讨[J/CD]. 中国产前诊断杂志(电子版), 2016, 8(2): 1-4.
[8] 李育敏, 覃俊龙, 熊丹, 等. ROC 曲线确定血红蛋白 A2 筛查 α 地中海贫血的临界值[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(22): 2786-2789.
[9] HAN W P, HUANG L, LI Y Y, et al. Reference intervals for HbA2 and HbF and cut-off value of HbA2 for β -thalassemia carrier screening in a Guizhou population of reproductive age[J]. Clin Biochem, 2019, 65: 24-28.
[10] 霍梅, 吴文苑, 刘妹, 等. 中国深圳地区孕妇毛细管血红蛋白电泳筛查地中海贫血截断值的探讨[J]. 中国实验血液学杂志, 2016, 24(2): 536-539.
[11] 孙艳虹, 郑丹, 陆雯韵. 血红蛋白毛细管电泳和血液学指标在地贫筛查中的诊断价值[J]. 标记免疫分析与临床, 2019, 26(7): 1081-1087.

(收稿日期: 2020-01-20 修回日期: 2020-07-20)

2017, 20(12): 356-358.
[11] 陈云凤, 刘素蓉, 陈艳. 治未病理论在预防慢性阻塞性肺疾病复发中的运用[J]. 中国中医药现代远程教育, 2015, 13(15): 6-7.
[12] 薛广伟, 冯淬灵, 姚小芹, 等. 健身气功八段锦在慢性阻塞性肺疾病稳定期肺康复中的疗效评价[J]. 北京中医药大学学报, 2015, 38(2): 139-144.

(收稿日期: 2019-12-12 修回日期: 2020-07-16)