

滤纸干血片法毛细管电泳 Hb Bart's 带筛查新生儿 α -珠蛋白生成障碍性贫血的应用价值评价^{*}

万志丹, 陈敬林, 黄 湘, 吴学威, 李冬秀, 钟裕恒 (南方医科大学附属中山博爱医院新生儿疾病筛查中心, 广东中山 528403)

【摘要】 目的 评估滤纸干血片毛细管电泳技术检测 Hb Bart's 带在新生儿期筛查 α -珠蛋白生成障碍性贫血的临床应用价值。**方法** 对 2 987 例新生儿足跟血标本应用滤纸干血片毛细管电泳技术检测 Hb Bart's 带水平并同时做基因分析, 采用四格表法分析 Hb Bart's 带对 α -珠蛋白生成障碍性贫血的筛查价值。**结果** 共检出 Hb Bart's 带阳性标本 131 例, 筛查阳性率为 4.39% (131/2 987)。经基因分析, 共检出 2 类 6 种 α -珠蛋白生成障碍性贫血基因共 226 例。Hb Bart's 带对 α -珠蛋白生成障碍性贫血诊断敏感度为 50.00% (113/226), 假阳性率为 0.65% (18/2 761); 特异性为 99.35% (2 743/2 761); 假阴性率 (即漏诊率) 为 50.00% (113/226); 其中 Bart's 带对 H 病的筛查敏感度高达 100.00%, 标准型 α -珠蛋白生成障碍性贫血的筛查敏感度为 90.99% (101/111), 对 $-\alpha(3.7)/\alpha\alpha$ 、 $-\alpha(4.2)/\alpha\alpha$ 静止型及非缺失型 α -珠蛋白生成障碍性贫血的筛查敏感度较低。**结论** 滤纸干血片毛细管电泳 Hb Bart's 带在新生儿期筛查 α -珠蛋白生成障碍性贫血有很高的特异性。对 H 病及标准型 α -珠蛋白生成障碍性贫血亦有较高的筛查敏感度, 但是对静止型及非缺失型 α -珠蛋白生成障碍性贫血的筛查价值有限。

【关键词】 干血片; Hb Bart's 带; α -珠蛋白生成障碍性贫血

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2016.07.012 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2016)07-0893-03

Assessment on application value of Hb Bart's band by capillary electrophoresis with dried blood filter paper for screening neonatal α -thalassemia^{*} WAN Zhi-dan, CHEN Jing-lin, HUANG Xiang, WU Xue-wei, LI Dong-xiu, ZHONG Yu-heng (Screening Center for Neonatal Diseases, Affiliated Zhongshan Bo'ai Hospital, Southern Medical University, Zhongshan, Guangdong 528403)

【Abstract】 Objective To assess the clinical application value of dried blood spot capillary electrophoresis in testing Hb Bart's band for screening neonatal α -thalassemia. **Methods** The level of Hb Bart's band in 2 987 neonatal heel blood samples was detected by using the dried blood spot capillary electrophoresis and the genotypes analysis was performed. Then the fourfold table method was adopted to analyze the screening value of the Hb Bart's band in α -thalassemia. **Results** Among 2 987 cases of dried blood spot samples, 131 cases of positive Hb Bart's band were screened out with the screening positive rate of 4.39% (131/2 987). The gene analysis showed that α -thalassemia genes in 226 cases included 2 categories 6 types. The sensitivity of Hb Bart's band in diagnosing α -thalassemia was 50.00% (113/226), the false positive rate was 0.65% (18/2 761), the specificity was 99.35% (2 743/2 761) and the false negative rate was 50.00% (113/226); the screening sensitivity of Hb Bart's band in HbH disease was up to 100.00%, which in standard α -thalassemia was 90.99% (101/111), which in $-\alpha(3.7)/\alpha\alpha$ 、 $-\alpha(4.2)/\alpha\alpha$ silent α -thalassemia and non-deletion genotypes of α -thalassemia was lower. **Conclusion** The Hb Bart's band has high specificity in screening neonatal α -thalassemia by using the dried blood spot capillary electrophoresis and high sensitivity in screening HbH disease and standard α -thalassemia, but limited value for screening silent α -thalassemia and non-deletion genotypes of α -thalassemia.

【Key words】 dried blood spot; Hb Bart's band; α -thalassemia

α -珠蛋白生成障碍性贫血 (简称 α -地贫) 是一组由于 α -珠蛋白基因缺陷所致 α -珠蛋白链缺失或合成不足而引起的遗传性溶血性贫血^[1]。有研究报道, 世界上约有 5% 的人群携带有 α -地贫突变基因^[2], 由于目前尚无针对此类遗传性疾病有效的治疗方法, 通过产前筛查和产前诊断选择性淘汰中重度 α -地贫胎儿, 是防治该疾病的有效途径。虽然轻型和静止型 α -地贫患

儿没有明显的临床症状, 甚至没有明显的血液学改变, 但父母若为 α -地贫的携带者, 则有可能生出中、重度地贫患儿, 因此尽可能早地对出生人群进行地贫筛查, 建立健康档案, 对于地贫防控具有重要意义。本中心将地贫筛查纳入新生儿筛查体系, 通过滤纸干血片毛细管电泳技术, 依据毛细管电泳结果中 Hb Bart's 带浓度 (以 Bart's 带浓度大于 0.00 作为阳性切值, 判定

^{*} 基金项目: 广东省医学科研基金资助项目 (A2014890); 广东省中山市科技计划资助项目 (2014A1FC006)。

作者简介: 万志丹, 女, 本科, 副主任检验师, 主要从事新生儿疾病筛查、产前筛查与诊断工作。

为 α -地贫阳性)对 α -地贫进行筛查。为进一步评估该筛查方法的可靠性,现随机采集新生儿足跟血及静脉血标本 2 987 例,同时做干血片毛细管电泳及基因分析,现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 随机收集 2014 年 6~12 月在本院进行新生儿疾病筛查患儿共 2 987 例,采集足跟血制作滤纸干血片进行毛细管电泳筛查 α -地贫,同时采集静脉血做基因分析。

1.2 方法 毛细管电泳采用 Sebia 公司生产的全自动新生儿滤纸干血片毛细管电泳仪及其配套试剂;同时采用 PCR+琼脂糖凝胶电泳检测常见的 3 种缺失型 α -地贫,反向点杂交法检测 3 种突变型 α -地贫,相应的试剂盒由深圳达安基因公司提供。

1.3 阳性判读 电泳结果以 Hb Bart's 带浓度 0.00%作为阳性切值,大于 0.00%判定为 α -地贫阳性;基因分析结果按照相应试剂盒说明书进行,以基因分析结果作为 α -地贫诊断的金标准。

1.4 统计学处理 所有研究对象的临床信息及实验数据汇总建立 Excel 数据库,结合基因诊断结果,采用四格表法分析 Hb Bart's 带对 α -地贫的筛查价值,同时讨论 α -地贫在人群中的基因携带率及 Hb Bart's 带对各基因型的检出情况。

2 结 果

2.1 共筛查足跟血 2 987 例,其中 Hb Bart's 带阳性 131 例,筛查阳性率为 4.39%(131/2 987);经基因型分析,共检测出携带 α -地贫基因患者 226 例,故电泳 Hb Bart's 带筛查敏感度(即真阳性率,阳性检出率)为 50.00%(113/226),假阳性率为 0.65%(18/2 761);筛查特异性为 99.35%(2 743/2 761),假阴性率(即漏诊率)为 50.00%(113/226)。

2.2 所有研究对象经基因型分析,共检出携带 α -地贫基因患者 226 例,本地区人群 α -地贫基因总体携带率为 7.57%(226/2 987),其中-(SEA)/ $\alpha\alpha$ 型 α -地贫基因携带率最高(3.68%),非缺失型 α -地贫基因携带率为 0.60%,各基因型人群携带率差异有统计学意义($\chi^2=77.53, P=0.000$),见表 1;经毛细管电泳 Hb Bart's 带筛查的 131 例阳性患者经基因检测共确诊 113 例,故 Hb Bart's 带筛查与 α -地贫基因检测的阳性符合率为 86.26%(113/131),进一步分析 Hb Bart's 带对各基因型的阳性检出率(即敏感度,真阳性率),结果为 Hb Bart's 带对 H 病的检出率最高为 100.00%(1/1),对标准型 α -地贫检出率为 90.99%(101/111),对非缺失型 α -地贫检出率为 16.67%(13/18),对静止型 α -地贫检出率最低,为 8.33%(8/96)。毛细管电泳 Hb Bart's 带对各 α -地贫基因型的检出率差异有统计学意义($\chi^2=147.55, P=0.000$),见表 1。

表 1 α -地贫各基因型的人群携带率及 Bart's 带对其阳性检出率的比较[%(n/n)]

基因型	携带率	检出率
-(SEA)/- α (4.2)	0.03(1/2 987)	100.00(1/1)
-(SEA)/ $\alpha\alpha$	3.68(110/2 987)	90.91(100/110)
- α (4.2)/- α (4.2)	0.03(1/2 987)	100.00(1/1)
- α (3.7)/ $\alpha\alpha$	2.41(72/2 987)	6.94(5/72)
- α (4.2)/ $\alpha\alpha$	0.84(24/2 987)	12.50(3/24)
非缺失型	0.60(18/2 987)	16.67(3/18)

3 讨 论

当前用于地贫的筛查与诊断最常用技术有:血常规结合红细胞脆性、毛细管血红蛋白电泳法、基因分析法等^[3]。由于血常规结合红细胞脆性进行地贫筛查的漏检率很高,通常只作为一个初步的筛查手段;基因分析法操作步骤繁琐,仪器设备昂贵,不适合在临床上大规模推广应用。因此,毛细管血红蛋白电泳是目前国内最常用的地贫筛查方法,但目前国内很多机构均采用脐带血对地贫进行早期筛查^[4-5]。与脐带血比较,滤纸干血斑存在更容易长期保存、方便运输、对新生儿创伤小且可与新筛项目同时检测等特点,因此具有更广泛的应用前景。

已有研究报道,使用 Sebia 公司 CAPILLARYS 2 系统分析胎儿血红蛋白,在产前确诊 Hb Bart's 病中可替代 DNA 分析,是一种简单、快速、有效的方法^[6];Mantikou 等^[7]也认为该系统在对新生儿血红蛋白病进行筛查时,采用新鲜脐血和干血斑,具有同样好的效果。而脐带血中 Hb Bart's 带浓度增加与 α -血红蛋白链的缺陷存在相关性^[8],Rugless 等^[9]也指出 Hb Bart's 带是 α -地贫筛查一项敏感指标。

本研究采集新生儿足跟血标本制成滤纸干血片,利用毛细管血红蛋白电泳技术进行新生儿 α -地贫筛查,同时采集新生儿静脉血做基因分析,采用四格表法分析 Hb Bart's 带对 α -地贫的筛查价值。结果表明,滤纸干血片毛细管电泳 Hb Bart's 带对 α -地贫的筛查阳性率为 4.39%(131/2 987),这与叶立新等^[10]报道的滤纸干血片毛细管电泳筛查阳性率基本一致;经基因型分析,共检测出携带 α -地贫基因患者 226 例,而 Hb Bart's 带筛查到阳性 131 例,进一步结合四格表数据分析得出,筛查特异性为 99.35%(2 743/2 761),筛查敏感度为 50.00%(113/226),假阳性率为 0.65%(18/2 761),假阴性率为 50.00%(113/226)。

探讨上述结果可能的原因有:(1)可能滤纸干血片对血红蛋白链具有一定的吸附作用,因此可能造成一定的假阴性结果,降低了诊断效率。(2)滤纸干血片采集的标本量及其他可能因素的影响。虽然国内有报道采用脐血^[11]及干血斑^[12]Hb Bart's 带筛查 α -地贫的报道,但这些研究多是对 Hb Bart's 带阳性患者召回做基因分析,得出 Hb Bart's 带筛查与基因确诊的符合率较高,但该符合率并不能真实反映 Hb Bart's 带对 α -地贫的筛查价值。

本研究还发现,本地区人群 α -地贫基因总体携带率为 7.57%(226/2 987),稍低于广东省 α -地贫整体 8.53%的携带率^[13],其中-(SEA)/ $\alpha\alpha$ 型 α -地贫基因携带率最高(3.72%),非缺失型 α -地贫基因携带率为 0.60%;经滤纸干血片毛细管电泳 Hb Bart's 带筛查,可以看出,对 H 病的筛查敏感度高达 100.00%,对标准型 α -地贫的筛查敏感度为 90.99%(101/111),对- α (3.7)/ $\alpha\alpha$ 、- α (4.2)/ $\alpha\alpha$ 静止型及非缺失型 α -地贫的筛查敏感度较低,分别为 6.94%、12.50%、16.67%。作者认为单纯用 CAPILLARYS 2 全自动毛细管电泳仪检测足跟血中的 Hb Bart's 带对 α -地贫的筛查价值有待提高。国外也有学者指出,Hb Bart's 带不能作为新生儿- α (3.7)/ $\alpha\alpha$ 型 α -地贫的筛选方法^[14]。

综上所述,利用滤纸干血片毛细管电泳 Hb Bart's 带筛查新生儿 α -地贫,对 H 病及标准型 α -地贫具有较高的特异性及

敏感度,但对静止型及非缺型 α -地贫的筛查敏感度低,漏诊率较高,临床上针对此类报告应结合其他指标进行综合判断,但由于滤纸干血片相比于脐带血的优越性,该方法对 α -地贫的筛查价值仍值得进一步探讨。

参考文献

[1] Siala H, Ouali F, Messaoud T, et al. alpha-Thalassaemia in Tunisia: some epidemiological and molecular data[J]. J Genet, 2008, 87(3): 229-234.

[2] Weatherall DJ. Hemoglobinopathies worldwide: present and future[J]. Curr Mol Med, 2008, 8(7): 592-599.

[3] 梁莉. α -地中海贫血的筛查与产前诊断的研究进展[J]. 右江民族医学院学报, 2015, 37(1): 143-145.

[4] 黄伟媚, 毛锦江, 甘冰. 脐血血红蛋白电泳在 α -地中海贫血早期诊断中的应用[J]. 中国优生与遗传杂志, 2011, 19(11): 118.

[5] 郭浩, 杜丽, 唐斌, 等. 脐血血红蛋白电泳在新生儿地中海贫血筛查中的应用[J]. 实用医学杂志, 2014, 30(12): 1953-1955.

[6] Liao C, Zhou JY, Xie XM, et al. Cord blood analysis for rapid prenatal confirmation of Hb Bart's disease using the Sebia Capillary electrophoresis system[J]. Hemoglobin, 2012, 36(2): 186-191.

[7] Mantikou E, Harteveld CL, Giordano PC. Newborn screening for hemoglobinopathies using capillary electrophoresis technology: Testing the Capillary Neonat Fast Hb device[J]. Clin

Biochem, 2010, 43(16/17): 1345-1350.

[8] Munkongdee T, Pichanun D, Butthep P, et al. Quantitative analysis of Hb Bart's in cord blood by capillary electrophoresis system[J]. Ann Hematol, 2011, 90(7): 741-746.

[9] Rugless MJ, Fisher CA, Stephens AD, et al. Hb Bart's in cord blood: an accurate indicator of alpha-thalassemia[J]. Hemoglobin, 2006, 30(1): 57-62.

[10] 叶立新, 袁晃堆, 甘文彬, 等. 干血斑毛细管电泳技术在新生儿 α -地中海贫血筛查中的应用[J]. 中国妇幼保健, 2015, 30(8): 1205-1207.

[11] 彭兰芬, 汤惠华, 曾见芬, 等. 新生儿脐血血红蛋白电泳对 α -珠蛋白生成障碍性贫血基因诊断的价值[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2010, 2(1): 40-42.

[12] 梁逸敏. 毛细管电泳技术在新生儿 α -地中海贫血筛查中的应用[J]. 中国实用医药, 2015, 10(10): 21-22.

[13] Xu XM, Zhou YQ, Luo GX, et al. The prevalence and spectrum of alpha and beta thalassaemia in Guangdong Province: implications for the future health burden and population screening[J]. J Clin Pathol, 2004, 57(5): 517-522.

[14] Wu MY, Xie XM, Li J, et al. Neonatal screening for alpha-thalassemia by cord hemoglobin Barts: how effective is it? [J]. Int J Lab Hematol, 2015, 37(5): 649-653.

(收稿日期: 2015-08-26 修回日期: 2015-12-16)

(上接第 892 页)

肾周血肿、腰背疼痛、24 h 内排尿困难及穿刺失败等并发症,本研究经纽曼系统护理干预后,以上并发症发病率明显低于对照组,提示纽曼系统护理模式可一定程度上良好维护系统的稳定性,减少手术并发症,促进康复,具有良好的临床应用性,同时也证实了纽曼系统护理模式可有效缓解 PRB 患者术前焦虑情况,并可有效降低术后并发症的发生率。

综上所述,纽曼系统护理模式可有效控制 B 超引导下 PRB 患者术前焦虑情况,降低术后并发症的发生。纽曼系统护理模式广泛应用于临床护理当中,可有效提高患者对疾病的自我控制能力,从而保证了护理质量及提高患者预后。

参考文献

[1] Turner SB, Kaylor SD. Neuman Systems Model as a Conceptual Framework for Nurse Resilience[J]. Nurs Sci Q, 2015, 28(3): 213-217.

[2] 杨淑群, 陈晓毅, 詹文伟, 等. 纽曼系统护理模式对原发性高血压患者血压及遵医行为的影响[J]. 现代临床护理, 2011, 10(6): 49-50.

[3] 杨芦荟, 夏敬彪, 张祥文. 肾活检所致出血的相关因素分析[J]. 医学临床研究, 2011, 28(4): 638-639.

[4] Bourdeanu L, Dee V. Assessment of chemotherapy-in-

duced nausea and vomiting in women with breast cancer: a Neuman systems model framework[J]. Res Theory Nurs Pract, 2013, 27(4): 296-304.

[5] 陈淑玲, 钟小航. 肾穿刺活检术并发血尿的护理[J]. 医学临床研究, 2011, 28(12): 2406-2407.

[6] 宇莹, 郭李, 李秋洁, 等. 应用 Neuman 保健系统模式对非精神科住院患者心理压力状况的调查[J]. 中国实用护理杂志, 2010, 26(2): 17-19.

[7] 钟春花, 符霞. 纽曼护理模式缓解诱导期血液透析患者压力的效果观察[J]. 现代临床护理, 2012, 11(3): 40-42.

[8] 吴冬梅, 沈洁. 纽曼护理对腹式全子宫切除术患者心理和术后康复的影响[J]. 检验医学与临床, 2014, 12(11): 372-374.

[9] 孙萍. 纽曼系统护理模式对冠脉造影患者术前焦虑及术后并发症的影响[J]. 中华现代护理杂志, 2013, 19(23): 2790-2793.

[10] 夏丹萍. 纽曼系统模式对胃癌根治术患者心理和生存质量的影响[J]. 现代中西医结合杂志, 2013, 22(11): 1237-1238.

(收稿日期: 2015-09-21 修回日期: 2015-11-26)