

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2021.19.003

应用多色探针熔解曲线分析法检测湘潭地区 G6PD 缺乏症基因突变^{*}

李晨辉,王淑媛,袁海斌,殷 伟,刘春梅

湖南省湘潭市妇幼保健院优生遗传科,湖南湘潭 411101

摘 要:**目的** 探讨多色探针熔解曲线分析(MMCA)法检测湘潭地区葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(G6PD)缺乏症基因突变的性能,为临床诊断提供参考。**方法** 纳入 2017 年 1 月至 2020 年 9 月于该院进行 G6PD 缺乏症筛查的 90 221 例新生儿,以其中 454 例同时进行 G6PD 酶活性法检测和基因检测[MMCA 法、外显子基因测序(Sanger 测序)法]的 G6PD 缺乏症初筛阳性新生儿作为研究对象,以 Sanger 测序法的检测结果为“金标准”,对酶活性法和 MMCA 法进行方法学比较。**结果** 酶活性法诊断男性新生儿 G6PD 缺乏症的灵敏度为 97.6%,特异度为 100.0%;诊断女性新生儿 G6PD 缺乏症的灵敏度为 59.5%,特异度为 100.0%。酶活性法与 Sanger 测序法诊断男性新生儿 G6PD 缺乏症的结果一致性较好($Kappa=0.974, P<0.05$),诊断女性新生儿 G6PD 缺乏症的结果一致性一般($Kappa=0.676, P<0.05$)。MMCA 法诊断男性新生儿 G6PD 缺乏症的灵敏度为 97.0%,特异度为 100.0%;诊断女性新生儿 G6PD 缺乏症的灵敏度、特异度均为 100.0%。MMCA 法与 Sanger 测序法诊断男性新生儿 G6PD 缺乏症的结果一致性较好($Kappa=0.967, P<0.05$),诊断女性新生儿 G6PD 缺乏症的结果完全吻合($Kappa=1.000, P<0.05$)。**结论** 与传统的酶活性法比较,MMCA 法具有灵敏度、特异度高的优点,是一种快速、准确、适用于临床诊断 G6PD 缺乏症的方法。

关键词:多色探针熔解曲线分析法; 葡萄糖-6-磷酸脱氢酶缺乏症; 基因突变; 酶活性

中图分类号:R446.9

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2021)19-2795-05

Detection of G6PD deficiency gene mutation in Xiangtan area by multicolor probe melting curve analysis method^{*}

LI Chenhui, WANG Shuyuan, YUAN Haibin, YIN Wei, LIU Chunmei

Department of Eugenic Inheritance, Xiangtan Maternal and Child Health Hospital, Xiangtan, Hunan 411101, China

Abstract:**Objective** To explore the performance of multicolor probe melting curve analysis (MMCA) method in detecting glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) deficiency gene mutation in Xiangtan area, so as to provide reference for clinical diagnosis. **Methods** Included 90 221 newborns who were screened for G6PD deficiency in this hospital from January 2017 to September 2020, among them, 454 cases initially screened positive newborns with G6PD deficiency undergoing G6PD enzyme activity method detection and genetic detection [MMCA method, exon gene sequencing (Sanger sequencing) method] at the same time were used as the research object. Took the detection result of Sanger sequencing method as the "gold standard", the methodological comparison of enzyme activity method and MMCA method was carried out. **Results** The sensitivity and specificity of enzyme activity method in the diagnosis of G6PD deficiency in male newborns were 97.6% and 100.0%, the sensitivity and specificity in the diagnosis of G6PD deficiency in female newborns were 59.5% and 100.0%. Enzyme activity method and Sanger sequencing method showed good consistency in the diagnosis of G6PD deficiency in male newborns ($Kappa=0.974, P<0.05$), and generally consistency in the diagnosis of G6PD deficiency in female newborns ($Kappa=0.676, P<0.05$). The sensitivity and specificity of MMCA method in the diagnosis of G6PD deficiency in male newborns were 97.0% and 100.0%, the sensitivity and specificity in the diagnosis of G6PD deficiency in female newborns were both 100.0%. MMCA method and Sanger sequencing method showed good consistency in the diagnosis of G6PD deficiency in male newborns ($Kappa=0.967, P<0.05$), and showed completely consistency in the diagnosis of G6PD deficiency in female

^{*} 基金项目:湖南省自然科学基金项目(2018JJ6076)。

作者简介:李晨辉,女,副主任技师,主要从事遗传代谢病研究。

本文引用格式:李晨辉,王淑媛,袁海斌,等.应用多色探针熔解曲线分析法检测湘潭地区 G6PD 缺乏症基因突变[J].检验医学与临床,2021,18(19):2795-2798.

newborns ($Kappa=1.000, P<0.05$). **Conclusion** Compare with the traditional enzyme activity method, the MMCA method has the advantages of high sensitivity and specificity, and which is a fast, accurate, and suitable method for clinical diagnosis of G6PD deficiency.

Key words: multicolor probe melting curve analysis method; glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency; gene mutation; enzyme activity

葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(G6PD)缺乏症是人类最常见的遗传代谢病之一,为 X 连锁不完全显性遗传病,患有 G6PD 缺乏症的新生儿易出现黄疸,严重者可导致脑损伤,甚至死亡^[1]。G6PD 缺乏症尚无特效治疗方法,仅能通过对症治疗缓解患儿症状,我国是该病的高发区之一,呈现“南方高北方低”的分布特点^[2-3]。对新生儿进行 G6PD 缺乏症早期筛查也是防治新生儿高胆红素血症的重要手段^[4]。筛查 G6PD 缺乏症的方法很多,主要分为酶学诊断和基因诊断两大类。酶学诊断简便、快捷、价格低廉,但不同类型的基因突变因累积酶的功能部位不同而表型迥异,且该方法不能有效检出女性杂合子;而基因诊断中,传统的检测方法需要 PCR 后处理,易造成 PCR 产物污染,操作烦琐、成本高^[5],本院应用多色探针熔解曲线分析(MMCA)技术建立了 G6PD 基因诊断体系,具有操作简单、快捷、高通量、高自动化、低成本等优势。本研究以外显子基因测序(Sanger 测序)法为“金标准”,比较酶活性法与 MMCA 法在 G6PD 缺乏症诊断中的价值,以期 G6PD 缺乏症的早期诊断提供更为有效的方法。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2017 年 1 月至 2020 年 9 月在本院新生儿疾病筛查中心进行 G6PD 缺乏症筛查的 90 221 例新生儿中,初筛阳性 1 024 例,召回 952 例,以其中 454 例同时进行 G6PD 酶活性法检测和基因检测(MMCA 法、Sanger 测序法)的新生儿作为研究对象,男 309 例,女 145 例,年龄 3~60 d。纳入研究的患儿家属均对本研究知情同意。

1.2 仪器与试剂 干血斑 G6PD 荧光定量分析法试剂盒和 1420 型荧光分析仪购于美国 PerkinElmer 公司;G6PD 定量酶活性测定试剂盒购于北京华宇亿康生物工程有限公司,T600 型全自动生化分析仪购自日本日立公司;G6PD 基因突变检测试剂盒(货号:YZB/国 1217-2015)、Lab-Aid 824 全自动核酸提取仪及配套核酸提取试剂(货号:604001)购自厦门致善生物科技有限公司;SLAN-96S 实时荧光定量 PCR 仪购自上海宏石医疗科技有限公司。

1.3 方法

1.3.1 新生儿 G6PD 缺乏症初筛 取出生后 3~7 d 新生儿足跟血,制成干血斑,由专人送至新生儿疾病筛查中心集中检测。采用 G6PD 荧光定量分析法进行 G6PD 水平检测。实验操作按试剂盒说明书要求

进行。以 1 g 血红蛋白中 G6PD <2.6 U 为初筛阳性。

1.3.2 酶活性法定量检测 G6PD 水平 采集 G6PD 缺乏症初筛阳性新生儿静脉血 2 mL(乙二胺四乙酸抗凝),检测红细胞 G6PD 活性,严格按照试剂盒说明书要求进行检测。G6PD 参考值为 1 700~2 600 U/L,当红细胞中 G6PD <1 700 U/L 为 G6PD 缺乏症。

1.3.3 MMCA 法检测 G6PD 基因突变 干血斑标本的核酸提取根据 Lab-Aid 824 全自动核酸提取仪及配套核酸提取试剂说明书进行操作。基因分型采用 G6PD 基因突变检测试剂盒,在 SLAN-96S 实时荧光定量 PCR 仪上进行检测,根据标本检测结果与野生型对照熔解峰差异来判读 G6PD 基因突变情况。MMCA 法采用荧光 PCR 熔解曲线,根据靶探针杂交产物熔点的差异检测 G6PD 基因突变,可同时检测 12 种常见突变类型,包括 c. 95A $>$ G、c. 383T $>$ C、c. 392G $>$ T、c. 487G $>$ A、c. 517T $>$ C、c. 592C $>$ T、c. 871G $>$ A、c. 1004C $>$ A、c. 1024C $>$ T、c. 1360C $>$ T、c. 1376G $>$ T、c. 1388G $>$ A,以及 4 种少见突变类型(科研位点)c. 1387C $>$ T、c. 493A $>$ G、c. 519C $>$ T、c. 1381G $>$ T。结果判读:比较待测标本与野生型对照熔解峰之间熔点(T_m 值)的差异, ΔT_m 值在 ± 1 °C 为野生型峰(阴性),超过 ± 2 °C 为突变型峰(阳性)。通过查阅人类基因突变数据库(HGMD)及文献鉴定每个突变位点的性质和蛋白功能改变。

1.3.4 G6PD 基因突变全基因组测序 应用 Sanger 测序法对 G6PD 基因的 2~12 外显子及外显子-内含子的剪切区域进行测序分析,若检测出突变基因则为阳性,反之为阴性。标本测序由浙江博圣生物技术股份有限公司完成。

1.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 软件进行数据分析。计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验;诊断结果的一致性判断采用 Kappa 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3 种方法对 G6PD 缺乏症筛查阳性新生儿的检测结果比较 在 454 例同时进行 G6PD 酶活性法、MMCA 法及 Sanger 测序法检测的新生儿中,酶活性法检测出男性阳性 165 例,女性阳性 25 例;MMCA 法检测出男性阳性 164 例,女性阳性 42 例;Sanger 测序法检测出男性阳性 169 例,女性阳性 42 例。见表 1。

2.2 G6PD 活性正常、基因突变阳性新生儿情况分

析 酶活性法检测出的 G6PD 活性正常新生儿中,21 例为 G6PD 基因突变阳性。该 21 例新生儿出生体质量、胎龄均正常,包括 4 例男性(均有输血史和黄疸治疗史)和 17 例女性(其中 3 例有黄疸治疗史)。4 例男性新生儿酶活性法的检测值为 1 700~2 000 U/L, G6PD 基因突变类型全部为 c. 1376G>T;17 例女性新生儿酶活性法的检测值>1 900 U/L, G6PD 基因突变类型为 c. 1376G>T 8 例,c. 1388G>A 6 例,c. 519C>T 1 例,c. 1024C>T 1 例及 c. 871G>A 1 例。

表 1 3 种方法对 G6PD 缺乏症筛查阳性新生儿的检测结果比较(n)

检测方法	阳性		阴性	
	男	女	男	女
酶活性法	165	25	144	120
MMCA 法	164	42	145	103
Sanger 测序法	169	42	140	103

2.3 G6PD 基因多态性分布情况 454 例新生儿中共检出 G6PD 基因突变 211 例。检出常见突变类型为 c. 1388G>A、c. 1376G>T、c. 95A>G、c. 1024C>T、c. 871G>A、c. 392G>T、c. 487G>A、c. 1004C>A、c. 1360C>T、c. 517T>C;检出少见突变类型为 c. 519C>T; Sanger 测序法检出 c. 1003G>A、c. 152C>T、c. 585G>T、c. 94C>G。G6PD 基因突变比例最高的前 3 位为 c. 1388G>A、c. 1376G>T、c. 95A>G。MMCA 法共检出 11 种突变类型,其中男性半合子突变 10 种,女性杂合子突变 9 种,女性未见纯合子和复合杂合突变。Sanger 测序法检出 15 种突变类型,其中男性半合子突变 14 种,女性杂合子突变 9 种,女性未见纯合子和复合杂合突变。见表 2。

表 2 G6PD 基因多态性分布情况[n(%)]

突变类型	总数	男性半合子	女性杂合子
c. 1388G>A	83(39.3)	65(38.5)	18(42.9)
c. 1376G>T	64(30.3)	53(31.4)	11(26.2)
c. 95A>G	20(9.5)	16(9.5)	4(9.5)
c. 1024C>T	18(8.5)	15(8.9)	3(7.1)
c. 871G>A	8(3.8)	6(3.6)	2(4.8)
c. 392G>T	6(2.8)	5(3.0)	1(2.4)
c. 487G>A	2(0.9)	1(0.6)	1(2.4)
c. 1360C>T	1(0.5)	1(0.6)	0(0.0)
c. 1004C>A	1(0.5)	1(0.6)	0(0.0)
c. 517T>C	1(0.5)	0(0.0)	1(2.4)
c. 519C>T(科研位点)	2(0.9)	1(0.6)	1(2.4)
c. 585G>T	1(0.5)	1(0.6)	0(0.0)
c. 94C>G	1(0.5)	1(0.6)	0(0.0)

续表 2 G6PD 基因多态性分布情况[n(%)]

突变类型	总数	男性半合子	女性杂合子
c. 152C>T	1(0.5)	1(0.6)	0(0.0)
c. 1003G>A	2(0.9)	2(1.2)	0(0.0)
合计	211(100.0)	169(100.0)	42(100.0)

2.4 酶活性法与 Sanger 测序法检测结果比较 以 Sanger 测序法为 G6PD 缺乏症基因诊断的“金标准”,对酶活性法进行方法学评价,结果显示,酶活性法诊断男性新生儿 G6PD 缺乏症的灵敏度为 97.6%(165/169),特异度为 100.0%(140/140),阳性预测值为 100.0%(165/165),阴性预测值为 97.2%(140/144)。酶活性法诊断女性新生儿 G6PD 缺乏症的灵敏度为 59.5%(25/42),特异度为 100.0%(103/103),阳性预测值为 100.0%(25/25),阴性预测值为 85.8%(103/120)。酶活性法与 Sanger 测序法诊断男性新生儿 G6PD 缺乏症的结果一致性较好(Kappa=0.974,P<0.05),诊断女性新生儿 G6PD 缺乏症的结果一致性一般(Kappa=0.676,P<0.05)。见表 3、4。

表 3 酶活性法与 Sanger 测序法诊断男性新生儿 G6PD 缺乏症的结果(n)

酶活性法	Sanger 测序法		合计
	阳性	阴性	
阳性	165	0	165
阴性	4	140	144
合计	169	140	309

表 4 酶活性法与 Sanger 测序法诊断女性新生儿 G6PD 缺乏症的结果(n)

酶活性法	Sanger 测序法		合计
	阳性	阴性	
阳性	25	0	25
阴性	17	103	120
合计	42	103	145

2.5 MMCA 法与 Sanger 测序法检测结果比较 以 Sanger 测序法为 G6PD 缺乏症基因诊断的“金标准”,对 MMCA 法进行方法学评价,结果显示,MMCA 法诊断男性新生儿 G6PD 缺乏症的灵敏度为 97.0%(164/169),特异度为 100.0%(140/140),阳性预测值为 100.0%(164/164),阴性预测值 96.6%(140/145)。MMCA 法诊断女性新生儿 G6PD 缺乏症的灵敏度为 100.0%(42/42),特异度为 100.0%(103/103),阳性预测值为 100.0%(42/42),阴性预测值为 100.0%(103/103)。MMCA 法与 Sanger 测序法诊断男性新生儿 G6PD 缺乏症的结果一致性较好(Kappa=0.967,P<0.05),诊断女性新生儿 G6PD 缺乏症

的结果完全吻合($Kappa=1.000, P<0.05$)。有 5 例男性新生儿用 MMCA 法检测出现假阴性结果, Sanger 测序法显示 1 例为 c. 585G>T, 1 例为 c. 94C>G, 1 例为 c. 152C>T, 2 例为 c. 1003G>A。见表 5、6。

表 5 MMCA 法与 Sanger 测序法诊断男性新生儿 G6PD 缺乏症的结果(n)

MMCA 法	Sanger 测序法		合计
	阳性	阴性	
阳性	164	0	164
阴性	5	140	145
合计	169	140	309

表 6 MMCA 法与 Sanger 测序法诊断女性新生儿 G6PD 缺乏症的结果(n)

MMCA 法	Sanger 测序法		合计
	阳性	阴性	
阳性	42	0	42
阴性	0	103	103
合计	42	103	145

3 讨 论

G6PD 缺乏症是一种 X 染色体连锁不完全显性遗传的红细胞酶缺陷病, 男性只有 1 条 X 染色体, 所以 G6PD 缺乏症表型为酶活性明显降低的半合子; 而女性有 2 条 X 染色体, 所以女性 G6PD 缺乏症表型为杂合子或纯合子, 且大部分女性为杂合子, 本研究基因诊断为 G6PD 缺乏症的 42 例女性患儿均为杂合子。女性杂合子患儿的酶活性可表现为正常、轻度缺乏、中度缺乏和显著缺乏^[6], 因此, 只筛查酶活性会漏诊表型正常的女性杂合子患儿, G6PD 缺乏症杂合子是新生儿高胆红素血症发生的独立危险因素之一^[7], 所以进行基因检测对女性杂合子患儿的筛查很重要。本研究对 454 例初筛为 G6PD 缺乏症的患儿采用酶活性法与 MMCA 法分别检测 G6PD 活性与基因突变类型, 其中基因突变类型共检出 15 种, c. 1388G>A、c. 1376G>T 和 c. 95A>G 是湘潭地区最常见的 G6PD 基因突变类型, 与湖南省其他地区的相关报道结果相符^[8-9]。本研究检出了 21 例酶活性正常, 而 MMCA 法和 Sanger 测序法的检测结果为阳性的新生儿, 包括 4 例男性新生儿和 17 例女性新生儿, 考虑出现该结果可能有以下几个原因: (1)同义突变未引起氨基酸的改变, 突变为多态性位点; (2)新生儿急性溶血期由于新生红细胞 G6PD 活性偏高可能导致酶活性法检测结果偏高; (3)在急性溶血期, 由于新生儿血液中幼稚红细胞较多, G6PD 活性较高; (4)其他未知原因造成的假阴性结果^[10]。询问 21 例新生儿的相

关病史, 4 例男性新生儿有输血史和黄疸治疗史; 17 例女性新生儿中 3 例有黄疸治疗史, 因此女性新生儿只有进行 G6PD 基因检测才能提高杂合子的检出率。

目前, 临床上针对 G6PD 缺乏症的基因检测方法有很多种, 如等位基因寡核苷酸探针杂交、变性梯度凝胶电泳、错配碱基 PCR/限制性内切酶图谱分析、PCR-单链构象多态性分析、DNA 测序等方法均可用于 G6PD 基因突变检测, 但是上述方法成本高, 操作过程复杂, 耗时长, 通量低, 不适合大规模样本检测。MMCA 法的主要原理是根据 DNA 序列长度、GC 含量及碱基互补差异, 应用高分辨率的熔解曲线对标本进行分析, 其极高的分辨精度可达到对单一碱基差异的分析。本研究中首先采用酶活性法和 MMCA 法对 454 例初筛阳性的 G6PD 缺乏症患儿分别进行酶活性和基因检测, 再以 Sanger 测序法的检测结果作为“金标准”, 评价酶活性法和 MMCA 法的检测效能。对男性新生儿而言, 酶活性法检测的灵敏度为 97.6%, 特异度为 100.0%, 与 Sanger 测序法的检测结果一致性较好; MMCA 法检测的灵敏度为 97.0%, 特异度为 100.0%, 与 Sanger 测序法的检测结果一致性较好。表明用酶活性法和 MMCA 法诊断男性新生儿 G6PD 缺乏症的效能高。对女性新生儿而言, 酶活性法检测的灵敏度为 59.5%, 特异度为 100.0%, 与 Sanger 测序法的检测结果一致性一般; MMCA 法检测的灵敏度、特异度均为 100.0%, 与 Sanger 测序法的检测结果完全一致, 与胡韦维等^[11]的相关研究结果相同。这也提示女性杂合子难以单纯根据酶活性进行准确诊断, 因为存在漏诊风险^[12], 因此, 建议女性新生儿直接采用 MMCA 法进行检测。此外, 本研究发现, 与 Sanger 测序法的结果比较, MMCA 法有 5 例假阴性结果, 分析其原因: G6PD 基因突变检测试剂盒 (MMCA 法) 是根据目前已报道的中国人 G6PD 基因突变的等位基因频率, 选择了 16 种常见的突变位点设计相应的引物和探针, 因此其检测范围与突变位点的位置有关; 而 Sanger 测序法是针对除了第 1 外显子以外的所有 G6PD 基因外显子进行检测, 其覆盖范围比 MMCA 法更广。而 MMCA 法检测出的这 5 例假阴性男性患儿 Sanger 测序法检测结果为 c. 585G>T (1 例)、c. 94C>G (1 例)、c. 152C>T (1 例)、c. 1003G>A (2 例), 由于这些突变类型不在 MMCA 法引物和探针设计的检测范围内而无法被检出。因此, 对临床高度疑似或者 MMCA 法试剂盒未覆盖的未知突变标本要用 Sanger 测序法确诊。

与 Sanger 测序法相比, MMCA 法具有以下优点, (1)检测快速、高通量: 可同时检测 46 份标本, 并在 2.5 h 内完成; (2)操作简便: PCR 与荧光探针杂交在同一反应体系内实时进行, 不需要 PCR 扩增后的杂交过程; (3)不易污染: 闭管操作, (下转第 2802 页)

参考文献

[1] 彭凤英,黄朝斌,何诚,等.液基膜式薄层细胞学技术(TCT)在B超引导下甲状腺细针穿刺病理诊断中的应用[J].诊断病理学杂志,2019,25(9):664-665.

[2] PARK J Y,YI J W,PARK C H,et al. Role of BRAF and RAS mutations in extrathyroidal extension in papillary thyroid cancer[J]. Cancer Genom Proteom,2016,13(2):171-181.

[3] JIANG L X,CHU H D,ZHENG H T. B-Raf mutation and papillary thyroid carcinoma patients[J]. Oncol Lett,2016,11(4):2699-2705.

[4] CHO S Y,LEE T H,KU Y H,et al. Central lymph node metastasis in papillary thyroid microcarcinoma can be stratified according to the number, the size of metastatic foci, and the presence of desmoplasia[J]. Surgery,2015,157(1):111-118.

[5] LIU F H,KUO S F,HSUEH C,et al. Postoperative recurrence of papillary thyroid carcinoma with lymph node metastasis[J]. J Surg Oncol,2015,112(2):149-154.

[6] 刘翠云,成慧,董惠,等. CK19 与 Bcl-2 联合检测在甲状腺乳头状癌诊断中的意义[J]. 中华肿瘤防治杂志,2015,22(4):21-24.

[7] 熊茉莉,刘英,张国福,等. 甲状腺弥漫性滤泡型乳头状癌 2 例临床病理分析[J]. 临床与实验病理学杂志,2018,34

(8):907-908.

[8] 位嘉,赵丽华,槐英丽,等. CK19、Galectin-3、HBME-1、TPO 和 CD56 在甲状腺乳头状癌病理诊断中的价值[J]. 标记免疫分析与临床,2018,25(10):1445-1449.

[9] OHTA M,OOKOSHI T,NAIKI H,et al. HBME-1 and CD15 immunocytochemistry in the follicular variant of thyroid papillary carcinoma[J]. Pathol Int,2015,65(3):119-125.

[10] GUCER H,BAGCI P,BEDIR R,et al. The value of HBME-1 and claudin-1 expression profile in the distinction of BRAF-like and RAS-like phenotypes in papillary thyroid carcinoma[J]. Endocr Pathol,2016,27(3):224-232.

[11] 杨俊杰,仇玲玲,寿乐意. 甲状腺微小乳头状癌中 CD56 的表达及意义[J]. 现代实用医学,2011,23(9):1044-1045.

[12] SCARPINO S,DI NAPOLI A,MELOTTI F,et al. Papillary carcinoma of the thyroid; low expression of NCAM (CD56) is associated with down regulation of VEGFD production by tumor cells[J]. J Pathol,2007,212(4):411-419.

[13] 赵娟,宋春娇,王诚. 甲状腺穿刺细胞学及其 BRAF V600E 突变检测的临床价值[J]. 临床与实验病理学杂志,2019,35(6):688-691.

(收稿日期:2021-01-23 修回日期:2021-04-01)

(上接第 2798 页)

无需 PCR 后处理;(4)方法可靠、结果易判断;其结果自动判断,减少人为因素判读失误;(5)成本更低^[13-14]。

综上所述,与传统的酶活性法比较,MMCA 法具有灵敏度、特异度高的优点,是一种快速、准确、适用于临床诊断 G6PD 缺乏症的方法。

参考文献

[1] 林彩娟,罗超,李旺,等. 2014 年广西地区新生儿 G6PD 筛查及确诊情况分析[J]. 中国妇幼保健杂志,2015,31(21):5361-5363.

[2] 王维鹏,邹琳,王治国. 新生儿疾病筛查与产前诊断实验室管理[M]. 北京:人民卫生出版社,2018:138-145.

[3] 李嶝,卓召振,王怡萌,等. 贵阳地区 5 486 例孕妇 G6PD 缺乏症基因突变筛查[J]. 贵州医科大学学报,2019,44(7):777-780.

[4] JIANG J,LI B,CAO W,et al. Screening and prevention of neonatal glucose 6-phosphate dehydrogenase deficiency in Guangzhou, china[J]. Genet Mol,2014,13(2):4271-4279.

[5] 吴新秀,杨学煌,曾宪琪,等. 荧光 PCR 溶解曲线法检测广东韶关地区 G6PD 缺乏的基因突变[J]. 湖南师范大学学报(医学版),2017,14(3):174-177.

[6] 杨紧根. 湖南娄底地区新生儿黄疸葡萄糖-6-磷酸脱氢酶基因突变分析[J]中国现代医学杂志,2014,24(19):38-40.

[7] KAPLAN M,HAMMERMAN C,VREMAN H J,et al.

Acute hemolysis and severe neonatal hyperbilirubinemia in glucose-6-phosphate dehydrogenase-deficient heterozygotes[J]. J Pediatr,2001,139(1):137-140.

[8] 李梨平,邹爱军,祝兴元. 湖南长沙地区 G6PD 基因突变与新生儿黄疸关系的研究[J]. 医学临床研究杂志,2004,22(3):299-301.

[9] 沈玉燕,黎剑,肖刚. 怀化部分地区 295 例新生儿葡萄糖-6-磷酸脱氢酶缺乏症基因检测结果分析[J]. 中国优生与遗传杂志,2017,25(12):65-67.

[10] 严提珍,中青燕,唐宁,等. 多色探针荧光 PCR 熔解曲线法在 G6PD 基因突变检测中的临床应用评价[J]. 中华医学遗传学杂志,2014,31(2):156-162.

[11] 胡韦维,李进,刘益,等. 应用多色探针熔解曲线法检测 G6PD 缺乏症杂合子的基因突变[J]. 第三军医大学学报,2018,40(9):830-835.

[12] 王朝,赵玉平. 葡萄糖-6-磷酸脱氢酶缺乏症的发病机制及诊疗现状[J]. 国际输血及血液学杂志,2017,40(2):178-181.

[13] 张娟,余朝文,苗静琨,等. 基于测序分析的新生儿葡萄糖-6-磷酸脱氢酶缺乏症分子诊断与基因新突变鉴定[J]. 中华检验医学杂志,2016,39(11):843-847.

[14] 刘秀莲,王洁,林燕,等. 346 例海南黎族新生儿 G6PD 基因突变分析[J]. 基因组学与应用生物学,2019,38(9):4224-4229.

(收稿日期:2021-01-26 修回日期:2021-05-09)