

血细胞分析和血红蛋白电泳在黎族珠蛋白生成障碍性贫血筛查中的应用*

胡俊杰¹, 陈鑫苹^{1#}, 王 洁², 张继业¹, 赵立强², 李晓娟¹,
徐卫华¹, 余永娟³, 文海峰⁴, 文 书⁵, 李凌云⁶, 符生苗^{1△}

(1. 海南省人民医院医学检验中心/海南省细胞与分子遗传转化医学重点实验室, 海口 570311; 2. 海南省妇幼保健院检验中心, 海口 570208; 3. 海南省白沙县人民医院检验科 571300; 4. 海南省昌江县人民医院检验科 572700; 5. 海南省琼中县人民医院检验科 572900; 6. 海南省陵水县计划生育服务中心检验科 572400)

[摘要] **目的** 评估血细胞分析、血红蛋白电泳及联合检测在黎族人群珠蛋白生成障碍性贫血(又称地中海贫血, 以下简称地贫)筛查中的价值。**方法** 以 4 823 例黎族和 2 792 例汉族中学生为研究对象, 进行血细胞分析、血红蛋白电泳和地贫基因检测, 比较分析单独检测和联合检测的灵敏度和特异度。**结果** 黎族和汉族血细胞分析检出地贫的灵敏度分别为 76.59% 和 70.19%, 特异度分别为 74.54% 和 71.82%; 血红蛋白电泳检出地贫的灵敏度分别为 79.05% 和 93.27%, 特异度分别为 63.31% 和 54.01%; 联合检测检出地贫的灵敏度分别为 99.41% 和 98.40%, 特异度分别为 46.75% 和 34.32%。**结论** 联合检测的灵敏度均高于单独检测, 其中血细胞分析特异度最高, 联合检测特异度均低于血细胞分析或血红蛋白电泳。

[关键词] 珠蛋白生成障碍性贫血; 血细胞分析; 血红蛋白电泳; 基因检测; 灵敏度; 特异度

[中图分类号] R394.3

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2018)29-3776-04

Application of blood cell analysis and hemoglobin electrophoresis for thalassemia screening Li Nationality*

HU Junjie¹, CHEN Xinping^{1#}, WANG Jie², ZHANG Jiye¹, ZHAO Liqiang², LI Xiaojuan¹,
XU Weihua³, YU Yongjuan³, WEN Haifeng⁴, WEN Shu⁵, LI Lingyun⁶, FU Shengmiao^{1△}

(1. Medical Examination Center/Hainan Provincial Key Laboratory for Cell and Molecular Genetic Translational Medicine, Hainan Provincial People's Hospital, Haikou, Hainan 570311, China;
2. Medical Examination Center, Maternal and Child Health Hospital, Haikou, Hainan 570208, China;
3. Department of Clinical Laboratory, Baisha People's Hospital, Baisha, Hainan 571300, China;
4. Department of Clinical Laboratory, Changjiang People's Hospital, Changjiang, Hainan 572700, China;
5. Department of Clinical Laboratory, Qiongzong People's Hospital, Qiongzong, Hainan 572900, China;
6. Department of Clinical Laboratory, Lingshui Family Planning Service Center, Lingshui, Hainan 572400, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the value of blood cell analysis, hemoglobin electrophoresis and combined analysis for thalassemia screening in Li Nationality. **Methods** A total of 4 823 Li and 2 792 Han middle school students were selected for blood cell analysis, hemoglobin electrophoresis and thalassemia gene detection. The sensitivity and specificity of single detection and combined detection were compared and analyzed. **Results** The sensitivity of blood cell analysis was 76.59% and 70.19% in Li and Han nationality respectively, and the specificity was 74.54% and 71.82% respectively. The sensitivity of hemoglobin electrophoresis was 79.05% and 93.27% in Li and Han nationality respectively, and the specificity was 63.31% and 54.01% respectively. The sensitivity of the combined detection of blood cell analysis and hemoglobin electrophoresis was 99.41% and 98.40% in Li and Han nationality respectively, and the specificity was 46.75% and 34.32% respectively. **Conclusion** The sensitivity of combined detection for thalassemia screening is higher than that of single detection. The specificity of blood cell analysis is the highest, and the specificity of combined detection was lower than that of blood cell analysis or hemoglobin electrophoresis.

[Key words] thalassemia; blood cell analysis; hemoglobin electrophoresis; gene detection; sensitivity; specificity

* 基金项目: 海南省卫生厅医学重点科研项目(琼卫 2010 重点-48); 海南省应用技术研发与示范推广专项(ZDXM2015071)。 作者简介: 胡俊杰(1993-), 初级检验技师, 硕士, 主要从事分子诊断学及地中海贫血相关研究。 # 共同第一作者: 陈鑫苹(1975-), 研究员, 博士, 主要从事临床分子诊断、精原干细胞、肿瘤遗传学等研究。 △ 通信作者, E-mail: smfu2000@126.com。

珠蛋白生成障碍性贫血(又称地中海贫血,以下简称地贫)是由于珠蛋白基因缺陷,导致血红蛋白结构异常而发生的一种慢性溶血性单基因隐性遗传病,我国长江流域以南的广东、广西、四川、云南、贵州、湖南、江西、浙江、福建、海南等地均是地贫高发地区,其中两广及海南地区的地贫流行形势较为严峻^[1-2]。黎族是海南省特有的少数民族,有研究显示海南黎族人群地贫基因携带率为 56.94%^[3],汉族人群地贫基因携带率为 14.95%^[4]。随着分子生物学技术的发展,地贫基因检测有望取代血细胞分析和血红蛋白电泳而成为诊断地贫的金标准,但基因检测成本较高,同时对操作环境和技术人员要求较严格,而黎族地区地处多为偏远的山区,经济发展落后,医疗条件较差,地贫基因检测难于推广,所以血细胞分析和血红蛋白电泳依然是黎族地区筛查地贫的主要方法。本研究选取海南黎族地区的黎族和汉族中学生为调查对象,探讨大样本下地贫筛查中血细胞分析和血红蛋白电泳的临床应用价值,为黎族地区的地贫筛查提供有效依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2014 年 6 月至 2017 年 5 月白沙、昌江、陵水、琼中、五指山等 5 个黎族市县,共 7 615 例中学生作为研究对象,其中黎族 4 823 例,汉族 2 792 例。采集静脉血 3 mL,乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝,4℃运输保存。

1.2 方法

1.2.1 血细胞分析 采用五分类血细胞分析仪 XE-2100(日本 Sysmex 公司)进行血细胞分析,筛查标准以红细胞平均体积(MCV)<82 fL 或红细胞平均血红蛋白量(MCH)<27 pg 为疑似地贫基因携带者。

1.2.2 血红蛋白电泳 采用 Cappilarys 2 型全自动毛细管电泳分析仪(法国 Sebia 公司)及配套试剂和质控品,严格按照标准操作规程进行血红蛋白电泳检测。筛查以血红蛋白 A(HbA):96.5%~97.5%,血红蛋白 A2(HbA2):2.4~3.0%,血红蛋白 F(HbF):0~1.0%排除 α,β 地贫基因携带者。

1.2.3 地贫基因检测 使用全血 DNA 提取试剂盒(北京天根生物技术公司)结合 Smart-32 核酸提取仪(广州中山大学达安基因股份有限公司)提取基因组 DNA,使用 PCR-流式荧光杂交法-地贫(α/β)基因检测试剂盒(广州中山大学达安基因股份有限公司)结合 Luminex MAGPIX 扫描仪(美国 R&D 系统公司),定性检测 α-地贫的 3 种缺失型(-SEA、-α3.7 和 -α4.2)、3 种突变型(WS122、QS125 和 CS142)及 β-地贫的 17 种突变型(CD41-42、IVS-2-654、CD17、-28、CD26、CD71-72、CD43、-29、Int、CD14-15、CD27-28、-32、-30、IVS-1-1、IVS-1-5、CD31 和 Cap)。

1.2.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件进行统计分析,计数资料以例数或百分率表示,采用 χ² 检验对血细胞分析、血红蛋白电泳、联合检测的检出率及 3 种方法的灵敏度和特异度进行统计分析,以 P<0.05 为差异统计学意义。灵敏度=真阳性数/(真阳性数+假阴性数)×100%,特异度=真阴性数/(真阴性数+假阳性数)×100%。

2 结果

2.1 地贫基因检测结果 4 823 例黎族研究对象中检测出地贫携带者 3 041 例,检出率为 63.05%,其中 α-地贫 2 678 例,占 55.53%;β-地贫 85 例,占 1.76%;α 合并 β 地贫 278 例,占 5.76%;正常者 1 782 例,占 36.95%。2 792 例汉族研究对象中检测出地贫携带者 624 例,检出率为 22.35%,其中 α-地贫 548 例,占 19.63%;β-地贫 51 例,占 1.83%;α 合并 β 地贫 25 例,占 0.90%;正常者 2 168 例,占 77.65%,见表 1。

表 1 地贫基因检测结果

地贫类型	黎族		汉族	
	n	%	n	%
α-地贫	2 678	55.52	548	19.63
β-地贫	85	1.76	51	1.83
α 合并 β 地贫	278	5.76	25	0.90
正常	1 782	36.95	2 168	77.65
合计	4 823	100.00	2 792	100.00

2.2 单独检测和联合检测的检出率 黎族研究对象中血细胞分析地贫检出率为 76.59%(2 329/3 041),其中 α-地贫检出率为 74.64%(1 999/2 678),β-地贫检出率为 89.41%(76/85);α 合并 β 地贫检出率为 91.37%(254/278)。血红蛋白电泳检测地贫检出率为 79.05%(2 404/3 041),其中 α-地贫检出率为 76.47%(2 048/2 678);β-地贫检出率为 96.47%(82/85);α 合并 β 地贫检出率为 98.56%(274/278)。联合检测地贫检出率为 99.41%(3 023/3 041),其中 α-地贫检出率为 99.40%(2 662/2 678);β-地贫检出率为 98.82%(84/85);α 合并 β 地贫检出率为 99.64%(277/278),见表 2。汉族研究对象中血细胞分析地贫检出率为 70.19%(438/624),其中 α-地贫检出率为 69.71%(382/548);β-地贫检出率为 68.63%(35/51);α 合并 β 地贫检出率为 84.00%(21/25)。血红蛋白电泳检测地贫检出率为 93.27%(582/624),其中 α-地贫检出率为 94.52%(518/548);β-地贫检出率为 80.39%(41/51);α 合并 β 地贫检出率为 92.00%(23/25)。联合检测地贫检出率为 98.40%(614/624),其中 α-地贫检出率为 98.54%(540/548);β-地贫检出率为 98.04%(50/51);α 合并 β 地贫检出率为 96.00%(24/25),见表 3。

表 2 黎族单独检测和联合检测的检出率

地贫类型	n	血细胞分析			血红蛋白电泳			联合检测		
		阳性数(n)	阴性数(n)	检出率(%)	阳性数(n)	阴性数(n)	检出率(%)	阳性数(n)	阴性数(n)	检出率(%)
α -地贫	2 678	1 999	679	74.64	2 048	630	76.47	2 662	16	99.40
β -地贫	85	76	9	89.41	82	3	96.47	84	1	98.82
α 合并 β 地贫	278	254	24	91.37	274	4	98.56	277	1	99.64
正常	1 782	453	1 329	25.42	634	1 148	36.69	949	833	53.25

表 3 汉族单独检测和联合检测的检出率

地贫类型	n	血细胞分析			血红蛋白电泳			联合检测		
		阳性数(n)	阴性数(n)	检出率(%)	阳性数(n)	阴性数(n)	检出率(%)	阳性数(n)	阴性数(n)	检出率(%)
α -地贫	548	382	166	69.71	518	30	94.52	540	8	98.54
β -地贫	51	35	16	68.63	41	10	80.39	50	1	98.04
α 合并 β 地贫	25	21	4	84.00	23	2	92.00	24	1	96.00
正常	2 168	611	1 557	28.18	997	1 171	45.99	1 424	744	65.68

2.3 单独检测和联合检测的灵敏度及特异度 黎族研究对象中血细胞分析的灵敏度为 76.59%，特异度为 74.54%；血红蛋白电泳的灵敏度为 79.05%，特异度为 63.31%；联合检测的灵敏度为 99.41%，特异度为 46.75%。汉族研究对象中血细胞分析的灵敏度为 70.19%，特异度为 71.82%；血红蛋白电泳的灵敏度为 93.27%，特异度为 54.01%；联合检测的灵敏度为 98.40%，特异度为 34.32%。黎族和汉族中联合检测的灵敏度均高于单独检测($P < 0.01$)，同时血红蛋白电泳的灵敏度均高于血细胞分析($P < 0.01$)。黎族和汉族对比分析显示，黎族血细胞分析的灵敏度高于汉族($P = 0.001$)，汉族血红蛋白电泳的灵敏度高于黎族($P < 0.01$)，联合检测中黎族、汉族间无明显差异($P = 0.08$)。黎族和汉族中联合检测的特异度均低于单独检测，且 3 种方法中黎族和汉族均以血细胞分析的特异度最高，此外黎族单独检测和联合检测的特异度均高于汉族($P < 0.01$)。

3 讨论

目前临床上地贫的治疗主要基于长期输血和铁螯合治疗，此方法会产生许多并发症，且重型地贫患者往往会因无法治疗而死亡^[5-6]，从社会经济和医疗资源角度分析，预防地贫患儿的出生比治疗更加重要。本研究中 4 823 例黎族人地贫基因携带率高达 63.05%，表明黎族地区地贫流行状况十分严重，而地贫筛查是地贫诊断和制定预防措施的第一步，在黎族人群大样本量流行病学调查中的实际应用值得探讨。

轻型地贫和缺铁性贫血在临床上均表现为小细胞低色素性贫血，仅以 MCV 和 MCH 为判断指标往往不足以完全区分这两种疾病，容易造成地贫的误诊^[7]。本研究中血细胞分析在黎族人群中筛查地贫的灵敏度为 76.59%，特异度为 74.54%，与郑琳等^[8]

在福建地区的研究结果存在一定差异，其中地理因素和研究人群的不同可能是主要原因。王英等^[9]报道将 MCV、MCH 结合红细胞体积分布宽度(RDW)检测可以对缺铁性贫血和地贫进行初步鉴别，此外宋凤吉^[10]研究也显示缺铁性贫血组的红细胞(RBC)和血红蛋白(Hb)均低于地贫组，但 RDW 高于地贫组。因此，为提高血细胞分析在地贫筛查中的灵敏度和特异度，可增加 RBC、Hb 和 RDW 等指标。

成年人正常 Hb 成分主要分为 3 类：HbA、HbA₂、HbF，当 α -地贫发生时 α 珠蛋白合成数量降低使得 HbA₂ 表达也降低， β -地贫发生时 β 珠蛋白合成数量降低使得 HbA₂ 或 HbF 表达增高，通过检测 Hb 成分变化可以判断地贫发生与否，以及地贫类型^[11-12]。大多数实验室设置 HbA₂ 的正常范围为 2.5%~3.5%，HbA₂ < 2.5% 初步判断为 α -地贫，HbA₂ > 3.5% 初步判断为 β -地贫，但不同地区及不同人群的 HbA₂ 参考值范围存在差异^[13]。本研究将 HbA₂ < 2.4% 初步判断为 α -地贫，HbA₂ > 3.0% 初步判断为 β -地贫，结果显示黎族和汉族人群血红蛋白电泳的灵敏度均高于各自的血细胞分析灵敏度，表明血红蛋白电泳在地贫筛查中表现较为优越。民族之间比较显示汉族血红蛋白电泳的灵敏度高于黎族($P < 0.01$)，但基因检测显示黎族地贫携带率高于汉族，表明初步设定的 HbA₂ 判断标准更适用于汉族人群。在 β -地贫中黎族的血红蛋白电泳灵敏度高于汉族，结合汉族 β -地贫携带率高于黎族(1.83% vs. 1.76%)，表明利用 HbA₂ 值判断地贫类型需要区分民族，即黎族和汉族的 Hb 成分的参考标准有较大差异。此外，本研究中黎族和汉族血红蛋白电泳的特异度均较低，与张卫云等^[14]报道用 HbA₂ 鉴别 β -地贫的特异度达 89.13% 有较大差异。因此，海南地区的

黎族和汉族人群 Hb 的各参考指标需要进一步优化以减小对特异度的影响。

杨梅^[15]报道用联合检测方法检测地贫的灵敏度达 81.67%，特异度达 95.83%。本研究中联合检测虽然具有高的灵敏度（黎族为 99.41%，汉族为 98.40%），但特异度（黎族为 46.75%，汉族为 34.32%）明显低于前者的研究结果，分析原因可能与前者研究样本量小，地贫携带率代表性不够有关，或本研究中设置的 HbA2 正常范围较小，导致地贫检测结果分析特异度降低。此外，本研究采用的地贫基因检测方法只能检测常见的 23 种地贫基因型，但结合联合检测结果发现存在血细胞分析和血红蛋白电泳结果与地贫基因检测结果不相符的异常黎族样本，可能超出此基因检测方法的检测范围但不能排除存在其他罕见或突变地贫基因型，需要用基因测序技术予以鉴定，所以联合检测结合基因检测技术在寻找新的基因突变方面具有较高的参考价值，为黎族地贫后期研究提供依据。

参考文献

- [1] LAI K, HUANG G, SU L, et al. The prevalence of thalassemia in mainland China: evidence from epidemiological surveys[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 920.
- [2] IP H W, SO C C. Diagnosis and prevention of thalassemia[J]. *Crit Rev Clin Lab Sci*, 2013, 50(6): 125-141.
- [3] 姚红霞, 吴智明, 吴从明, 等. 海南黎族成人血红蛋白含量及地中海贫血基因频率的调查[J]. *中国热带医学*, 2004, 4(5): 699-700.
- [4] 周代锋, 王政, 蔡兰洁, 等. 海南省汉、黎族人群缺失型 α -地中海贫血的研究[J]. *中国热带医学*, 2006, 6(9): 1549-1551.
- [5] KURTOGLU A U, KURTOGLU E, TEMIZKAN A K.

Effect of Iron overload on endocrinopathies in patients with beta-thalassaemia major and intermedia [J]. *Endokrynol Pol*, 2012, 63(4): 260-263.

- [6] PAN H F, LONG G F, LI Q, et al. Current status of thalassemia in minority populations in Guangxi, China [J]. *Clin Genet*, 2007, 71(5): 419-426.
- [7] GULEN H, HANIMELI O, KARACA O, et al. α -Thalassemia frequency and mutations in children with hypochromic microcytic anemias and relation with β -thalassemia, Iron deficiency anemia[J]. *Pediatric Hematol Oncol*, 2012, 29(3): 241-246.
- [8] 郑琳, 黄海龙, 范向群, 等. 血细胞和血红蛋白分析在地中海贫血中的应用价值[J]. *中国妇幼保健*, 2016, 31(3): 547-549.
- [9] 王英, 潘昆怡, 黄际宪. 红细胞与网织红细胞参数在缺铁性贫血与地中海贫血患儿中的意义[J]. *热带医学杂志*, 2014, 14(10): 1303-1305, 1332.
- [10] 宋凤吉. 血液检验在贫血诊断中的具体作用分析[J]. *大家健康(下旬版)*, 2016, 10(7): 62.
- [11] HIGGS D R, ENGEL J D, STAMATOYANNOPOULOS G. Thalassemia[J]. *Lancet*, 2012, 379(9813): 373-383.
- [12] SHANG X, XU X. Update in the genetics of thalassemia: what clinicians need to know[J]. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*, 2017, 39(1): 3-15.
- [13] 梁华铭, 黎金美. 全自动毛细管蛋白电泳系统在地中海贫血筛查中的应用[J]. *中国医学创新*, 2010, 7(14): 41-42.
- [14] 张卫云, 杨雄攀, 李林海, 等. MCH、MCV、RDW-CV、HbA2 和红细胞脆性试验在地中海贫血和缺铁性贫血鉴别诊断中的应用[J]. *生物技术通讯*, 2016, 27(2): 244-248.
- [15] 杨梅. 地中海贫血筛查中 MCV 和 Hb 电泳联合检测的临床价值[J]. *中外医学研究*, 2017, 15(11): 66-68.

(收稿日期: 2018-05-26 修回日期: 2018-06-21)

(上接第 3775 页)

- [7] 李卫东, 杨帆, 李弘海, 等. 成都市第五人民医院住院糖尿病患者费用及其影响因素分析[J]. *中国循证医学杂志*, 2017, 17(1): 13-18.
- [8] 杜亚玲. 2 型糖尿病患者胰岛素强化治疗的住院费用和成本效果分析研究[D]. 石河子: 石河子大学, 2014.
- [9] 徐楠, 刘克军, 顾雪非, 等. 糖尿病治疗人群医疗总费用研究[J]. *中国卫生经济*, 2016, 35(10): 65-68.
- [10] 何苗, 唐晓君, 龙倩, 等. 特殊疾病医疗保险对糖尿病患者治疗费用的影响及相关因素分析[J]. *浙江大学学报(医学版)*, 2016, 45(3): 323-329.
- [11] 颜涛, 李中凯, 于爱平. 新疆某三甲医院常见疾病医保与自费患者住院费用的差异分析[J]. *中国病案*, 2016, 17(12): 67-69.

- [12] PARK S Y, RHEE S Y, CHON S, et al. Effects of foot complications in patients with type 2 diabetes mellitus on public healthcare: an analysis based on the Korea National Diabetes Program Cohort [J]. *J Diabetes Complications*, 2017, 31(2): 375-380.
- [13] 张冠. 不同并发症对天津市参保 2 型糖尿病患者住院费用影响的分析[D]. 天津: 天津医科大学, 2016.
- [14] 张毓辉, 万泉, 柴培培, 等. 我国糖尿病医疗费用及筹资负担研究[J]. *中国卫生经济*, 2017, 36(4): 17-19.
- [15] 段力, 梁庆顺, 符宇, 等. 2 型糖尿病及其并发症住院药费分析[J]. *中医临床研究*, 2017, 9(4): 4-7.

(收稿日期: 2018-05-11 修回日期: 2018-06-12)