

• 论 著 •

静止型 α -地中海贫血红细胞指标临界值的确定及其应用*

汪伟山, 周玉球[△], 张永良, 肖奇志

(广东省珠海市妇幼保健院检验科/广东省珠海市医学遗传研究所 519001)

摘要:目的 探讨并评估红细胞相关指标及其临界值用于筛查静止型 α -地中海贫血(α -地贫)的临床价值。方法 以 77 例单纯性静止型 α -地贫患者和 151 例健康成人作为研究对象, 采用受试者工作特征曲线(ROC 曲线)确定静止型 α -地贫筛查指标及其临界值。结果 MCV、MCH、MCHC 的 ROC 曲线下面积分别为 0.857、0.858、0.740, 均有筛查价值, 其最佳临界值分别为 82.0 fl、28.0 pg 和 341.5 g/L; MCV $\leq$ 82.0 fl 或 MCH $\leq$ 28.0 pg 平行模式筛查静止型 α -地贫的灵敏度、特异度和漏诊率分别为 93.5%、72.8% 和 6.49%。结论 采用 MCV $\leq$ 82.0 fl 或 MCH $\leq$ 28.0 pg 平行模式可有效检出静止型 α -地贫, 为地贫高发区进行遗传咨询提供了一定的科学依据。

关键词: 地中海贫血; 红细胞; ROC 曲线; 筛查

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.02.002

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2011)02-0147-03

Determination and Application of the cut-off values of RBC Indexes in Screening for Silent α -Thalassemias Carriers

Wang Weishan, Zhou Yuqiu[△], Zhang Yongliang, Xiao Qizhi

(Department of Clinical Laboratory & Zhuhai Institute of Medical Genetics, Zhuhai Municipal Maternity and Child Healthcare Hospital, Zhuhai 519001, China)

Abstract: **Objective** To investigate the cut-off values of RBC indexes in screening silent alpha-thalassemias carriers and to evaluate clinical application of the cut-off values. **Methods** RBC indexes of 77 cases with silent α -thalassaemia and 151 healthy adults (as normal control group) were retrospectively, β -thalassaemias and iron deficiency were excluded in the above mentioned individuals. The receiver operating characteristic(ROC)curve was used for identifying the useful RBC index and determining the cut-off values in the screening for silent α -thalassaemias. **Results** (1)The area under ROC curve of MCV, MCH, MCHC were 0.857, 0.858 and 0.740, respectively. These indexes were of value to screen for silent α -thalassaemias carriers; (2)The cut-off values of MCV, MCH, MCHC were 82.0 fl and 28.0 pg as well as 341.5 g/L; (3)The sensitivity and specificity of the parallel test of either MCV or MCH were 93.5% and 72.8%, respectively. Five silent α -thalassaemia carriers failed to detect by the parallel test, resulting in a rate of 6.49%(5/77) for failure of detection, the risk of failure of detection was decreased 12 times when compared with recommended standard by TIF. They were much better than other tests. **Conclusion** The parallel test of either MCV $\leq$ 82.0 fl or MCH $\leq$ 28.0 pg can screen silent α -thalassaemia carriers effectively. The results provide the scientific basis of clinical value for clinics performing genetic counseling in the high prevalent area of thalassaemia, especially in the areas where thalassaemias can not be genotyped.

Key words: thalassemia; erythrocytes; ROC; screening

α -地中海贫血(简称 α -地贫)是常见单基因遗传性血液病之一, 我国广东和广西两省 α -地贫基因携带率分别达 8.53% 和 17.55%^[1-2]。各临床实验室普遍采用国际地中海贫血协会(Thalassaemia International Federation, TIF)制定并推荐的 MCV $<$ 78.0 fl 和 MCH $<$ 27.0 pg 标准及血液学表型综合分析筛查 α -地贫基因携带者, 其缺陷在于可能存在部分基因携带者, 特别是静止型 α -地贫的漏检^[3-7]。因此有必要建立能更有效地筛查静止型 α -地贫的血液学指标以降低漏诊率。受试者工作特征曲线(receiver operating characteristic, ROC 曲线)是全面、准确评价诊断试验的有效工具^[8]。本研究采用 ROC 曲线对静止型 α -地贫患者和健康成人红细胞相关指标进行分析, 以期发现能有效筛查静止型 α -地贫的 RBC 相关指标, 降低静止型 α -地贫漏检率。

1 资料与方法

1.1 研究对象 2007 年 1 月至 2010 年 6 月于本院经 DNA

检测确诊的单纯性静止型 α -地贫患者 77 例, 缺失型($-\alpha$) α -地贫 59 例, 其中右侧缺失($-\alpha^{3.7}$)和左侧缺失($-\alpha^{4.2}$)分别为 47 和 12 例; 非缺失型(α^T) 18 例, HbCS、HbQS 和 HbWS 各占 11、6 和 1 例^[9-10]。随机选择同期经分子诊断排除 α -地贫的健康成人 151 例作为健康对照。所有受试对象均排除携带 β -地贫基因, 并经血清铁、铁蛋白和可溶性转铁蛋白受体检测排除缺铁; 女性为非妊娠个体。

1.2 方法 采用 ROC 曲线和四格表法评价红细胞各项指标鉴别静止型 α -地贫患者和健康者的诊断效率, 并以平行试验(任意 1 项指标阳性即可诊断)和系列试验(不同指标组合均阳性即可诊断)评价指标应用价值。

1.3 统计学处理 应用 SPSS 17.0 统计学软件进行数据处理。

2 结果

2.1 ROC 曲线分析 用 ROC 曲线分析红细胞各项指标,

* 基金项目: 广东省科技计划项目(2009A030301002); 广东省自然科学基金(04101691); 广东省医学科研基金(A2003737); 珠海市科技计划项目(PC200310072)。 [△] 通讯作者, E-mail: zhzhouyq@126.com。

ROC 曲线下面积(area under ROC curve, AUC)从大到小依次为红细胞平均血红蛋白量(MCH)0.858、红细胞平均体积(MCV)0.857、平均红细胞血红蛋白浓度(MCHC)0.740、血红蛋白(Hb)0.635、血细胞比容0.596、红细胞计数0.445、红细胞分布宽度0.386。

2.2 MCV、MCH、MCHC 单独应用的比较 用 3 个指标最佳临界值判断 228 例样本,绘制四格表,分别计算灵敏度(Se)、特异度(Sp)、阳性预测值(PPV)、阴性预测值(NPV)、阳性似然比(+LR)、阴性似然比(-LR)、漏诊率、误诊率、准确度(Ac),

结果见表 1。

2.3 MCV、MCH、MCHC 联合应用的比较 平行试验包括以下组合:(1)MCV 或 MCH 或 MCHC;(2)MCV 或 MCH;(3)MCV 或 MCHC;(4)MCH 或 MCHC。系列试验包括以下组合:(1)MCV+MCH+MCHC;(2)MCV+MCH;(3)MCV+MCHC;(4)MCH+MCHC。结果见表 2、3。

2.4 与 TIF 标准的比较 平行(2)模式与 TIF 标准诊断效率比较见表 4。以二项分布进行率的比较,二者间除+LR及-LR外,其余指标差异均有统计学意义($P<0.05$)。

表 1 MCV、MCH、MCHC 单独应用的比较

指标	Se(%)	Sp(%)	PPV(%)	NPV(%)	+LR	-LR	漏诊率(%)	误诊率(%)	Ac(%)
MCV	81.8	80.8	68.5	89.7	4.26	0.225	18.2	6.0	81.1
MCH	89.6	76.8	66.3	93.5	3.86	0.135	10.4	23.1	81.1
MCHC	85.7	56.3	50.0	88.5	1.96	0.254	14.3	43.7	66.2

表 2 MCV、MCH、MCHC 联合应用平行试验比较

联合方式	Se(%)	Sp(%)	PPV(%)	NPV(%)	+LR	-LR	漏诊率(%)	误诊率(%)	Ac(%)
平行(1)	96.1	48.3	48.7	96.1	1.86	0.08	3.9	51.7	64.5
平行(2)	93.5	72.8	63.7	95.7	3.44	0.09	6.5	27.2	79.8
平行(3)	96.1	48.3	48.7	96.1	1.86	0.08	3.9	51.7	64.5
平行(4)	94.8	52.3	50.3	95.2	1.99	0.10	5.2	47.7	66.7

表 3 MCV、MCH、MCHC 联合应用系列试验比较

联合方式	Se(%)	Sp(%)	PPV(%)	NPV(%)	+LR	-LR	漏诊率(%)	误诊率(%)	Ac(%)
系列(1)	68.8	88.7	75.7	84.8	6.09	0.35	31.2	11.3	82.0
系列(2)	77.9	84.8	72.3	88.3	5.13	0.26	22.1	15.2	82.5
系列(3)	71.4	88.7	76.4	85.9	6.32	0.32	28.6	11.3	82.9
系列(4)	80.5	80.8	68.1	89.1	4.19	0.24	19.5	19.2	80.7

表 4 平行(2)模式与 TIF 标准诊断效率的比较

项目	Se(%)	Sp(%)	PPV(%)	NPV(%)	+LR	-LR	漏诊率(%)	误诊率(%)	Ac(%)
TIF 标准	19.5	97.4	78.9	73.9	7.49	0.83	80.5	2.6	71.1
平行(2)	93.5	72.8	63.7	95.7	3.44	0.09	6.5	27.2	79.8

3 讨 论

AUC 可作为诊断试验的衡量指标,对于一个诊断试验,当 $0.5<AUC\leq 0.7$ 时诊断价值较低,当 $0.7<AUC\leq 0.9$ 时诊断价值中等,在 $AUC>0.9$ 时诊断价值较高,故 MCH、MCV、MCHC 对静止型 α -地贫有筛查价值,其最佳临界值分别为 28.0 pg,82.0 fl,341.5 g/L^[11]。

静止型地贫或 β -地贫合并 α -地贫时,因 MCV 和(或)MCH 可正常,易造成漏诊^[4,6]。虽然 DNA 诊断可准确检出各型地贫,但技术要求高且不经济。地贫基因携带者红细胞相关指标改变的程度与珠蛋白链合成障碍正相关,轻型地贫明显低于静止型地贫,但如果将静止型地贫与轻型地贫的红细胞相关指标合并分析,有可能得出较低的指标临界值而造成静止型地贫漏诊^[12]。从表 4 可知,以 TIF 标准筛查静止型 α -地贫的漏诊率为 80.5%,提示不能将静止型地贫与轻型地贫进行合并分析。李亚红等^[13]报道,妊娠期缺铁性贫血的发生率为 7.1%。由于妊娠和缺铁均对红细胞相关指标有影响,故本研究严格选择单纯性静止型 α -地贫患者作为研究对象,以期找到可用于静止型 α -地贫筛查的更敏感的红细胞指标。

本研究结果显示平行试验漏诊率低于系列试验。从表 2、

3 可知平行(1)、(3)模式虽较平行(2)漏诊率低,但误诊率高;系列试验灵敏度低、漏诊率高。平行(2)模式 Se、Sp、NPV、Ac 及漏诊率均优于平行(1)、(3)模式,故 MCH 或 MCV 是筛查静止型 α -地贫的最好指标。

从表 1 可知 MCV、MCH、MCHC 对静止型 α -地贫均有筛查价值,但灵敏度以 MCH 最高,与相关报道一致^[6]。MCV 易受包括妊娠、血液离体时间和抗凝剂种类及浓度等各种因素影响^[6,14]。MCH 受体内外因素影响较小,且血细胞自动分析仪多采用氰化高铁 Hb 法检测 Hb,结果准确度高,故建议临床采用 MCH 作为静止型 α -地贫筛查的指标。

表 1~3 显示,无论单独应用还是联合应用,红细胞相关指标的+LR 均不理想,说明静止型 α -地贫与健康人群间的重叠区较大,难以区分。因此,如育龄夫妇一方为-^{SEA}基因携带者,其配偶即使红细胞相关指标正常,也有必要进行 α -地贫基因检查,以避免生育重型 α -地贫胎儿。如育龄夫妇一方有 α -地贫特征,其配偶 $MCV\leq 82.0$ fl 或 $MCH\leq 28.0$ pg,则建议进行 DNA 诊断;如配偶 $MCV>82.0$ fl 和 $MCH>28.0$ pg,根据广东和广西两省区 α -地贫发生率并以平行(2)模式进行筛查,此类夫妇生育重型 α -地贫胎儿的概率为 2.8‰和 4.9‰^[1-2]。应

用本研究中平行(2)模式相关指标临界值筛查静止型 α -地贫,漏诊率较 TIF 标准低 12 倍。本研究结果为临床应用红细胞相关指标有效筛查静止型 α -地贫提供了比较科学的策略,也为地贫高发区,特别是尚未开展 DNA 诊断的医疗保健机构进行地贫遗传咨询提供了具有临床实用价值的科学预测数据,有利于降低临床风险。

参考文献

- [1] 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.
- [2] Xiong F, Sun M, Zhang X, et al. Molecular epidemiological survey of haemoglobinopathies in the Guangxi Zhuang Autonomous Region of southern China[J]. Clin Genet, 2010, 78(2): 139-148.
- [3] Old J, Traeger-Synodinos J, Galanello R, et al. Prevention of Thalassaemias and other haemoglobin disorders (Volume 2: Laboratory Methods)[M]. Oxford: Thalassaemia International Federation Publications, 2004: 2.
- [4] 周玉球, 李文典, 徐湘民. 用于血红蛋白病遗传筛查的实验室诊断技术[J]. 国际遗传学杂志, 2008, 31(1): 17-22.
- [5] 张崇林. 轻型地中海贫血早期诊断中 RBC/MCV 比值的意义[J]. 国际检验医学杂志, 2008, 29(7): 654.
- [6] Old JM. Screening and genetic diagnosis of haemoglobin disorders [J]. Blood Rev, 2003, 17(1): 43-53.

(上接第 146 页)

M-PCR 虽理论上可在设计过程中排除各引物间形成引物二聚体的可能性,但在应用过程中仍会受引物种类、dNTP、 Mg^{2+} 、缓冲液、DNA 聚合酶等因素影响,更应注意多对引物间量的比例、引物和产物 G、C 含量、扩增反应条件是否一致等,因此需进行大量预试验以探索最佳反应条件,否则仍有可能产生引物二聚体或非目的 DNA 片段^[12]。本研究结果证实所建立的 M-PCR 体系具有较好的准确性和灵敏度,可广泛应用于多个耐药基因的检测,也为耐药基因芯片或快速检测试剂盒的研发和生产提供了依据^[13]。

参考文献

- [1] Lin L, Ling BD, Li XZ. Distribution of the multidrug efflux pump genes, adeABC, adeDE and adeIJK, and class 1 integron genes in multiple-antimicrobial-resistant clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*-*Acinetobacter calcoaceticus* complex[J]. Int J Antimicrob Agents, 2009, 33(1): 27-32.
- [2] Jin H, Xu XM, Mi ZH, et al. Drug-resistant gene based genotyping for *Acinetobacter baumannii* in tracing epidemiological events and for clinical treatment within nosocomial settings[J]. Chin Med J (Engl), 2009, 122(3): 301-306.
- [3] 李文波, 贾晓冬, 张文杰, 等. 鲍曼不动杆菌临床分布及耐药表型检测分析[J]. 国际检验医学杂志, 2009, 30(11): 1063-1065.
- [4] 武大伟, 马全珍, 魏殿军, 等. 鲍曼不动杆菌 ESBLs 和金属酶的基因型分析[J]. 国际检验医学杂志, 2009, 30(4): 323-325.
- [5] Vahaboglu H, Ozturk R, Aygun G, et al. Widespread detection of

- [7] Chan LC, Ma SK, Chan AYY, et al. Should we screen for globin gene mutations in blood samples with mean corpuscular volume (MCV) greater than 80fl in areas with a high prevalence of thalassaemia? [J]. J Clin Pathol, 2001, 54: 317-320.
- [8] Mark G. Receiver-operating characteristic (Roc) plots: Fundamental Evaluation Tool in Clinical Medicine[J]. Clin Chem, 1993, 30(4): 561-567.
- [9] 周玉球, 张永良, 李莉艳, 等. 单管多重 PCR 快速检测中国人 3 种常见缺失型 α -地中海贫血基因[J]. 中华医学遗传学杂志, 2005, 22(2): 180-184.
- [10] Chan V, Yam I, Chen FE, et al. A reverse dot-blot method for rapid detection of non-deletion alpha thalassaemia [J]. Br J Haematol, 1999, 104(3): 513-515.
- [11] 余松林. 医学统计学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 164-178.
- [12] 周天红, 张新华, 刘志昂, 等. 轻型地中海贫血和静止型基因携带者平均红细胞体积截断值及应用[J]. 中国实验诊断学, 2007, 11(5): 625-627.
- [13] 李亚红, 梁玉全, 岑妙珍, 等. 地中海贫血基因携带者产前筛查及实验室指标的评价[J]. 国际检验医学杂志, 2007, 28(8): 673-680.
- [14] Yeo GS, Tan KH, Liu TC. Screening for beta thalassaemia and HbE traits with the mean red cell volume in pregnant women[J]. Ann Acad Med Singapore, 1994, 23(3): 363-366.

(收稿日期: 2010-05-07)

PER-1-type extended-spectrum beta-lactamases among nosocomial *Acinetobacter* and *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Turkey: a nationwide multicenter study[J]. Antimicrob Agents Chemother, 1997, 41(10): 2265-2269.

- [6] 陈榆, 黄支密, 单浩, 等. 1999~2003 年鲍氏不动杆菌耐药变迁与 β -内酰胺酶表型及基因型检测[J]. 中华医院感染学杂志, 2005, 15(1): 12-17.
- [7] Naas T, Namdari F, Réglier-Poupet H, et al. Panresistant extended-spectrum beta-lactamase SHV-5-producing *Acinetobacter baumannii* from New York City[J]. J Antimicrob Chemother, 2007, 60(5): 1174-1176.
- [8] 黄支密, 毛培华, 陈榆, 等. 鲍氏不动杆菌 SHV 型 β -内酰胺酶基因分子流行病学研究[J]. 中国流行病学杂志, 2004, 25(5): 425-427.
- [9] 朱德妹, 张婴元, 汪复, 等. 2008 年上海地区细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2009, 9(6): 401-411.
- [10] 闫中强, 沈定霞, 罗燕萍, 等. 多重 PCR 方法检测多耐药鲍曼不动杆菌基因型[J]. 临床检验杂志, 2008, 26(6): 442-424.
- [11] 马真, 蔡绍曦, 佟万成, 等. 多重聚合酶链反应技术快速鉴定鲍曼不动杆菌[J]. 热带医学杂志, 2009, 9(9): 991-993.
- [12] Elfath EM, Ashshi AM, Cooper RJ, et al. Multiplex PCR: Optimization and application in diagnostic virology[J]. Clin Microbiol Rev, 2000, 13(4): 559-570.
- [13] 高兴, 王景林. 基因芯片技术在病原细菌检测中的应用[J]. 中国生物工程杂志, 2010, 30(2): 100-104.

(收稿日期: 2010-05-04)