

• 临床检验研究论著 •

全自动毛细管电泳仪在新生儿  $\alpha$  珠蛋白生成障碍性贫血筛查中的应用

王志丹, 黄 湘, 吴学威, 李冬秀, 郑国兵, 姚英姿, 梁 睿

(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 528402)

**摘要:**目的 探讨全自动毛细管电泳仪在新生儿  $\alpha$  珠蛋白生成障碍性贫血筛查中的应用价值。方法 使用全自动毛细管电泳仪对 45 863 例新生儿脐血标本进行血红蛋白(Hb)电泳分析,检测 HbA、HbF、HbA2 和异常 Hb 的含量,对筛查表型阳性的病例召回进行基因分析。结果 45 863 例新生儿脐血标本中检测出巴特血红蛋白(Hb Bart's)阳性者 2 964 例,筛查阳性率 6.46%(2 964/45 863);召回其中 1 278 例行基因分析,1 173 例确诊为  $\alpha$  珠蛋白基因缺失,符合率 91.8%。确诊病例以标准型为主,占 64.4%;基因分型以 --SEA/ $\alpha\alpha$  最为常见。静止型的 Hb Bart's 含量 95% 置信区间为 0.13%~0.97%,标准型 Hb Bart's 含量 95% 置信区间为 1.28%~5.92%,HbH 病 Hb Bart's 含量 95% 置信区间为 8.32%~30.28%,Hb Bart's 水肿胎 Hb Bart's 含量高于 80%。结论 全自动毛细管电泳分析技术与基因分析有良好的一致性,根据 Hb Bart's 含量的多少可初步进行  $\alpha$  珠蛋白生成障碍性贫血的临床分型。

关键词:  $\alpha$  地中海贫血; 毛细管电泳; 婴儿, 新生

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.11.012

文献标识码: A

文章编号:1673-4130(2012)11-1308-02

## Application of full automated capillary electrophoresis system in the analysis of neonatal alpha thalassemia

Wan Zhidan, Huang Xiang, Wu Xuwei, Li Dongxiu, Zheng Guobing, Yao Yingzi, Liang Rui

(Center of Neonatal Screening, Zhongshan Bo'ai Hospital Affiliated to Southern Medical University, Zhongshan, Guangdong 528402, China)

**Abstract:** Objective To assess capillary electrophoresis system in the analysis of neonatal alpha thalassemia. Methods Using automatic capillary electrophoresis instrument to analyze 45 863 cases of neonatal cord hemoglobin(Hb) electrophoresis to detect HbA, HbF, HbA2 and abnormal Hb content, and the positive phenotypes cases were recalled for genetic analysis. Results Among all 45 863 cases of neonatal cord specimens, 6.46%(2 964/45 863) were with Hb Bart's. 1 278 positive cases were recalled for gene detection, among which 1 173 patients were alpha globin gene deletion, with coincidence rate 91.8%. Most confirmed cases were standard type, about 64.5%, and genotyping of --SEA/ $\alpha\alpha$  was the most common. The 95% range of Hb Bart's content in static type was 0.13%~0.97%, in standard type was 1.28%~5.92% and in HbH disease was 8.32%~30.28%. In Hb Bart's fetal edema, the content of Hb Bart's was more than 80%. Conclusion Automatic capillary electrophoresis might be with great consistency with gene analysis. Alpha thalassemia could be preliminarily typed according to the Hb Bart's content.

Key words: alpha-thalassemia; capillary electrophoresis; infant, newborn

$\alpha$  珠蛋白生成障碍性贫血(简称  $\alpha$ -地贫),是中国南方省市常见的遗传性疾病之一。由于红细胞脆性试验及红细胞指数对新生儿  $\alpha$ -地贫筛查效果不理想,使得脐血血红蛋白(Hb)电泳成为新生儿  $\alpha$ -地贫筛查的重要手段<sup>[1]</sup>;以往的琼脂糖电泳对条带分辨的主观性较大,不能很好地区分异常 Hb 条带,使得毛细管电泳技术被越来越多地应用于临床。本中心采用全自动毛细管电泳技术对中山市各医疗机构的新生儿脐血进行 Hb 电泳分析,并对电泳筛查  $\alpha$ -地贫表型阳性者召回进行常见缺失基因的检测分析。现将结果报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 2010 年 6 月至 2011 年 5 月,对包括本院在内的全市 24 个接产机构,在知情选择情况下采集 45 863 例新生儿脐血标本,送达本院新生儿疾病筛查中心集中进行电泳筛查,并对筛查表型阳性者召回进行常见缺失基因的检测分析。

## 1.2 仪器与试剂

**1.2.1 全自动毛细管电泳** 采用法国 Sebia 公司的 Capillarys2 全自动毛细管电泳仪及配套 Hb 电泳试剂盒 CAPILLARYS HEMOGLOBIN(E)。

**1.2.2 质控品** Sebia 公司提供的正常 HbA2 质控品。

**1.2.3 基因分析** PCR 扩增仪、分子杂交仪、电泳仪及  $\alpha$  珠蛋白基因诊断试剂盒(深圳益生堂生物有限公司提供)。

## 1.3 方法

**1.3.1 Hb 电泳** 将 EDTA-K<sub>2</sub> 抗凝脐血混匀后直接上机检测,按照 Capillarys2 全自动毛细管电泳仪的操作要求完成定标、质控和标本检测。

**1.3.2 基因检测** 对召回的表型阳性病例采用多重断裂点 PCR(Gap-PCR)技术进行最常见的东南亚型(--SEA)、右侧缺失(- $\alpha$ 3.7)、左侧缺失(- $\alpha$ 4.2)3 种  $\alpha$  珠蛋白缺失型基因分析。

**1.3.3 评估方法** 新生儿脐血 Hb 电泳,如出现异常 Hb 带 [HbH、巴特血红蛋白(Hb Bart's)]为  $\alpha$ -地贫表型阳性。对表型阳性的病例召回行基因检测,以基因检测作为参考方法,比较电泳筛查结果与基因检测结果的符合率;分析常见临床分型的 Hb Bart's 含量分布。

**1.4 统计学处理** 用 Excel 软件建立数据库,应用 SPSS13.0 对数据进行统计分析,计量资料采用  $\bar{x} \pm s$  表示,多组比较采用 One-Way ANOVA 检验,两两比较采用 SNK(Student-Newman-Keuls)法,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 毛细管电泳筛查结果** 在 45 863 例脐血标本中共检出 Hb Bart's 阳性 2 964 例, HbH 阳性 47 例。另检出 HbE 阳性 66 例,其他异常 Hb 条带 154 例。判断为  $\alpha$ -地贫表型阳性者

2 964 例, 筛查阳性率 6.46% (2 964/45 863), 见表 1。

表 1 毛细管电泳检测异常 Hb 条带例数及发生率

异常条带	n	发生频率(%)
HbE	66	0.14
Hb Bart's	2 917	6.36
HbH+Hb Bart's	47	0.10
其他异常 Hb	154	0.34
合计	3 184	6.94

## 2.2 基因分析结果

### 2.2.1 全自动毛细管电泳筛查结果与基因分析结果的符合率

对含有 Hb Bart's 的 2 964 例  $\alpha$ -地贫表型阳性的病例召回了 1 278 例行基因确诊, 其中确诊为  $\alpha$  珠蛋白基因缺失 1 173 例, 符合率 91.8% (1 173/1 278)。含有 HbH 的 47 例病例中召回 23 例行基因确诊, 其中 22 例确诊为  $\alpha$  珠蛋白基因缺失, 符合率 95.7% (22/23)。检出 HbE 的 66 例病例召回进行基因确诊的有 46 例, 其中确诊为  $\beta$ E 基因携带者 34 例, 符合率 73.9% (34/46)。

2.2.2 临床分型与 Hb Bart's 含量的分布 所有召回进行基因检测的疑似患儿中确诊为  $\alpha$ -地贫者 1 173 例, 以 --SEA/ $\alpha\alpha$  最为常见, 结果见表 2~3。

表 2 1 173 例脐血  $\alpha$ -地贫基因型及其频率

临床分型	n	基因型	频率[n(%)]
静止型	392	-- $\alpha$ 3.7/ $\alpha\alpha$	265(22.59)
		-- $\alpha$ 4.2/ $\alpha\alpha$	127(10.83)
标准型	757	--SEA/ $\alpha\alpha$	749(63.85)
		-- $\alpha$ 3.7/-- $\alpha$ 4.2	8(0.68)
HbH 病	22	-- $\alpha$ 3.7/--SEA	9(0.77)
		--SEA/-- $\alpha$ 4.2	4(0.34)
		--SEA/ $\alpha\alpha$	9(0.77)
Hb Bart's 水肿胎	2	--SEA/--SEA	2(0.17)

表 3 1 173 例脐血  $\alpha$ -地贫临床分型及其 Hb Bart's 含量分布

临床分型	n	Hb Bart's 含量(%)		平均含量(%)
		50%百分位数	95%百分位数	
静止型	392	0.20	0.90	0.55±0.21
标准型	757	1.70	5.50	3.60±1.16*
HbH 病	22	10.20	28.30	19.30±5.49*#
Hb Bart's 水肿胎	2	—	—	>80

\*:  $P < 0.05$ , 与静止型比较; #:  $P < 0.05$ , 与标准型比较; —: 无数据。

## 3 讨论

$\alpha$ -地贫是由于  $\alpha$  链合成减少造成非  $\alpha$  链相对过剩而形成四聚体。 $\alpha$ -地贫筛查常用方法有 Hb 电泳、红细胞指数、一管定量法脆性实验。脐血 Hb 电泳能检测出特异的 Hb Bart's 条带, 是目前新生儿  $\alpha$ -地贫筛查最简便有效的方法。而本研究采用的全自动毛细管电泳技术克服了以往琼脂糖电泳对条带分辨的主观性较大, 不能很好地区分异常 Hb 条带的缺点, 可准

确地对各种 Hb 组分相对定量, 尤其是那些重要的组分, 例如 Hb Bart's、HbA、HbF 等。

本研究的 45 863 例脐血标本中, 检出 Hb Bart's 阳性者 2 964 例, 筛查阳性率 6.46%, 低于北海地区 7.58% 的筛查阳性率<sup>[2]</sup>, 与深圳地区 6.51% 的筛查阳性率接近<sup>[3]</sup>。据报道, 中山户籍人群的  $\alpha$ -地贫基因携带率为 10.32%<sup>[4]</sup>, 明显高于本次研究的筛查阳性率, 主要原因是毛细管电泳技术还存在假阴性, 对静止型  $\alpha$ -地贫存在一定漏检率<sup>[5]</sup>。所以对于有家族史而电泳未能检测出 Hb Bart's 条带的人员建议行基因检测, 结合临床综合分析。

在新生儿期采用脐血 Hb 电泳筛查  $\alpha$ -地贫与基因检测结果的符合率达 91.8%, 特别是同时出现 HbH 条带时, 符合率高达 95.7%, 对于 Hb Bart's 水肿胎的诊断则更加准确、直观。据报道, 成人 Hb 电泳筛查  $\alpha$ -地贫与基因检测结果的符合率只有 74.9%<sup>[6]</sup>, 明显低于新生儿期筛查的符合率。这主要是由于 Hb Bart's 只特异性地存在于新生儿期, 3 个月后自然消失。本研究显示, 中山地区  $\alpha$ -地贫患者以标准型为主, 占 64.4%; 基因型则以 --SEA/ $\alpha\alpha$  为主, 占 63.85%。表 3 提示静止型的 Hb Bart's 含量 95% 置信区间为 0.13%~0.97%, 标准型 Hb Bart's 含量 95% 置信区间为 1.28%~5.92%, HbH 病 Hb Bart's 含量 95% 置信区间为 8.32%~30.28%, Hb Bart's 水肿胎 Hb Bart's 含量高于 80%, 对于 Hb Bart's 含量与临床分型的关系各研究报道有所不同<sup>[7]</sup>, 这可能与实验室设备、方法、环境等有关, 建议根据各实验室条件设定 Hb Bart's 区间作为临床分型的参考。

本中心未采用脐血 Hb 电泳对  $\beta$  珠蛋白生成障碍性贫血进行筛查, 建议 2 岁后再行检测。因为在新生儿期 Hb  $\beta$  肽链的表达率较低, 极少出现 HbA2 带, 而且抗碱 Hb 的量远远大于成人, 即使是重型  $\beta$  珠蛋白生成障碍性贫血, 其指标及临床表现也不十分明显, 因此新生儿脐血电泳对诊断  $\beta$  珠蛋白生成障碍性贫血较困难。有报道指出可以根据 HbA/HbF 的比值来筛查  $\beta$  珠蛋白生成障碍性贫血, 但目前没有公认的临界值, 需进一步研究。

中山地区是广东省  $\alpha$ -地贫的高发区, 在本地区应用毛细管电泳技术开展  $\alpha$ -地贫的新生儿筛查, 对于研究本地区新生儿  $\alpha$ -地贫的基因携带率及其分型, 开展遗传咨询、优生优育等工作有着重要作用。

## 参考文献

- [1] 欧阳辉, 邓杨富. 脐血血红蛋白电泳在地中海贫血诊断中的应用[J]. 检验医学与临床, 2009, 5(6): 729-730.
- [2] 安家嘉. 北海地区新生儿脐血血红蛋白电泳实验结果分析[J]. 西南国防医药, 2011, 21(1): 46-48.
- [3] 蒋晓君, 金晴. 深圳特区 538 例新生儿脐血血红蛋白 Bart 含量分析[J]. 实用医学杂志, 1995, 11(2): 120-121.
- [4] 何晓玲, 张翠梅, 冯华俊. 中山市  $\alpha$  地中海贫血的新生儿筛查[J]. 右江民族医学院学报, 2010, 32(4): 487-490.
- [5] 张翠梅, 王莹, 高建慧, 等. 中山市户籍人群中  $\alpha$ -地中海贫血的分子流行病学调查[J]. 中国儿童保健杂志, 2010, 18(5): 361-364.
- [6] 梁华铭, 黎金美. 1 826 例育龄期妇女地中海贫血筛查结果分析[J]. 中国实用医药, 2010, 5(17): 52-53.
- [7] 黄庆梅. 全自动琼脂糖凝胶电泳系统在孕妇和新生儿 Hb 病检查中的应用[J]. 医学动物防制, 2010, 26(8): 776-777.