

MCV、MCH 和 HbA₂ 检测在育龄人群地中海贫血筛查中的价值

唐德国, 田洁, 阳少辉, 王具, 艾延民, 张苗

永州市妇幼保健院, 湖南 永州 425000

摘要: **目的** 通过评价 MCV(红细胞平均体积)、MCH(平均红细胞血红蛋白量)和 HbA₂ 指标与育龄人群地中海贫血(以下简称“地贫”)之间的相关性,探索出适宜筛查策略,以提高地中海贫血检出率,减少地中海贫血漏诊率和误诊率。**方法** 对 2016 年 4-5 月永州地区人群血红蛋白病分子流行病学调查的 2 002 例样本(其中确诊地贫 234 例,非地贫 1 768 例)进行回顾性分析。统计 MCV、MCH 和 HbA₂ 单项指标和联合指标在地中海贫血筛查和基因诊断中的灵敏度、特异性和准确度,并进行统计学分析。**结果** 三项目并联试验的灵敏度(87.18%)明显高于三项目串联试验(59.83%),差异有统计学意义($P<0.05$)。三项目串联试验的特异性(99.55%)明显高于三项目并联试验(87.16%),差异有统计学意义($P<0.05$)。两项目并联试验的灵敏度(79.06%)略低于三项目并联试验(87.18%),特异性(95.13%)和诊断符合率(93.26%)略低于三项目串联试验(99.55%和 94.91%),差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** MCV、MCH 和 HbA₂ 指标对地贫筛查有较高的价值,MCV、MCH 两项目并联试验效果最好,简单、经济、有效,有助于基层医院开展地贫筛查。

关键词: MCV; MCH; HbA₂; 地中海贫血; 筛查; 基因诊断

中图分类号: R556 **文献标识码:** A **文章编号:** 1006-3110(2017)12-1458-04 **DOI:** 10.3969/j.issn.1006-3110.2017.12.014

Value of mean corpuscular volume, mean corpuscular hemoglobin and hemoglobin A₂ detection in the screening of thalassemia among population of reproductive age

TANG De-guo, TIAN Jie, YANG Shao-hui, WANG Ju, AI Yan-min, ZHANG Miao

Maternal and Child Health Hospital of Yongzhou City, Yongzhou, Hunan 425000, China

Abstract: **Objective** To explore an appropriate strategy for thalassemia screening by evaluating the correlations between the mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular hemoglobin (MCH), hemoglobin A₂ (HbA₂) and thalassemia among population of reproductive age, so as to improve the detection rate of thalassemia and decline its missed diagnosis and misdiagnosis rates.

Methods We retrospectively analyzed 2,002 samples (including 234 cases of confirmed thalassemia and 1,768 cases of non-thalassemia) from the molecular epidemiological survey of hemoglobin-related diseases from April to May in 2016 among residents in Yongzhou. The sensitivity, specificity and accuracy of single index and combined indices of MCV, MCH and HbA₂ in the screening and genetic diagnosis of thalassemia were statistically analyzed. **Results** The sensitivity of MCV, MCH and HbA₂ in parallel testing (87.18%) was significantly higher than that of the three indexes in series testing (59.83%), with a statistically significant difference ($P<0.05$). The specificity of MCV, MCH and HbA₂ in series testing (99.55%) was obviously higher than that of the three index in parallel testing (87.16%), with a statistically significant difference ($P<0.05$). The sensitivity of MCV and MCH in parallel testing (79.06%) was slightly lower than that of MCV, MCH and HbA₂ in parallel testing (87.18%). The specificity (95.13%) and diagnostic coincidence rate (93.26%) of MCV and MCH were slightly lower than those of the three indexes in series testing (99.55%, 94.91%), without statistically significant differences (all $P>0.05$). **Conclusions** It is of great value to screening thalassemia through detection of MCV, MCH and HbA₂. Parallel testing with MCV and MCH is the best way for thalassemia screening, with the advantages of simplicity, money-saving and efficiency. It is conducive to screening of thalassemia in grass-roots hospitals.

Key words: MCV; MCH; HbA₂; thalassemia; screening; genetic diagnosis

基金项目:永州市科技局重点科技创新支撑项目(项目编号: 20152500002)

作者简介:唐德国(1975-),男,湖南永州人,副主任技师,研究方向:遗传优生。

地中海贫血是世界上最常见的一类单基因遗传病,主要分为 α -和 β -地中海贫血(简称地贫),是对人类健康危害最大的溶血性血液病之一。临床上,地贫基因携带者常为无症状个体,但父母双方若均为同

类型 α -或 β -地贫基因携带者时,其后代就有可能患重症 α -和 β -地贫。重症 α -和 β -地贫均为致死性疾病,前者常胎死宫内或出生后半小时内死亡,若不接受输血及除铁治疗,后者可能在未成年前夭折。重症 β -地贫的治疗目前除难于配型、费用昂贵的造血干细胞移植外,尚无有效的治疗措施,患者长期靠输血治疗,但常死于铁离子沉着症。地贫基因携带率较高,患儿的出生将对社会和家庭产生巨大精神、经济压力^[1-4]。因此,基于孕前和产前地贫筛查,防止重症地贫患儿出生,是国际上公认的预防策略^[5-7]。

地中海贫血基因携带者或患者常伴有血液表型的改变。本研究通过对血液表型指标 MCV(红细胞平均体积)、MCH(平均红细胞血红蛋白量)和 HbA₂ 与永州市育龄人群地中海贫血间的关联进行回顾性研究分析,为优化永州地区地贫防控策略提供依据。

1 对象与方法

1.1 研究对象 对象为 2016 年 4 月 1 日-5 月 31 日行永州地区人群血红蛋白病分子流行病学调查的 1 001 对夫妇(2 002 人份),年龄 20~40 岁,行婚检、孕前检查或产前检查(16 周前)的夫妇。其中确诊地贫 234 人,非地贫 1 768 人。

1.2 检测方法 本研究按照国际血红蛋白病表型筛查和分子诊断操作指南^[8],重点针对中国人地贫特异性突变^[9]进行分析,所有血样品行血常规检测(法国 ABX Pentra XL80 全自动五分类分析仪)及血红蛋白分析(法国 Sebia Capillarys 2 Flex Piercing 全自动八通道高压毛细管电泳仪),所有样品均针对中国人常见 6 种 α -地贫基因突变进行检测;MCV<80 fl 和/或 MCH<27 pg 者,血红蛋白毛细管电泳分析 HbA₂≥3.5%或/和 Hb F≥2.5%者,进行 16 种中国人 β -地贫基因突变检测。 α -和 β -地贫分子诊断采用导流杂交芯片检测试剂盒(广东凯普生物科技股份有限公司)完成^[10]。血液学表型阳性(包括发现异常血红蛋白)但上述分子诊断检测阴性的可疑样本,进一步采用一代测序进行 α -或 β -珠蛋白基因序列分析,确定样本的基因突变型。

1.3 研究分组 以基因诊断为金标准分为地贫组和非地贫组,其中地贫组含静止型 α -地贫组 71 例(包括 $\alpha^{WS}\alpha/\alpha\alpha$ 5 例, $\alpha^{QS}\alpha/\alpha\alpha$ 3 例, $\alpha^{QS}\alpha/\alpha\alpha$ 5 例, $-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$ 11 例, $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ 47 例),轻-中型 α -地贫组 93 例(包括 $-\alpha^{SEA}/\alpha\alpha$ 88 例, $-\alpha^{3.7}/\alpha^{CS}\alpha$ 2 例和 $-\alpha^{3.7}/\alpha^{WS}\alpha$ 1 例, $-\alpha^{SEA}/-\alpha^{3.7}$ 2 例),轻型 β -地贫组 70 例($\beta^{CD41-42}/\beta^N$ 26 例, $\beta^{IVS-2-654}/\beta^N$ 20 例, β^{CD17}/β^N 8 例, β^{-28}/β^N 5 例,

β^{CD26}/β^N 2 例, $\beta^{CD71-72}/\beta^N$ 1 例, β^{-29}/β^N 1 例, $\beta^{CD86-87}/\beta^N$ 1 例, $\beta^{CD30}/\beta^{CD113}$ 1 例, β 复合 α 地贫 5 例)。

1.4 研究指标 以 MCV<80 fl、MCH<27 pg、HbA₂<2.5%(α -地贫)、HbA₂≥3.5%(β -地贫)判为阳性。如果几种检测方法中任何一种出现阳性结果即判定为阳性,为并联试验,如果几种检测方法中均出现阳性结果即判定为阳性,为串联试验。

1.5 应用评估的参数 灵敏度(Se)=TP/(TP+FN)×100%,特异性(Sp)=TN/(FP+TN)×100%,诊断符合率(Ac)=(TP+TN)/(TP+FP+FN+TN)×100%,阳性预测值(PPV)=TP/(TP+FP)×100%,阴性预测值(NPV)=TN/(FN+TN)×100%。各种检测方法检测地贫组的阳性例数用 TP 表示,各种检测方法检测地贫组的阴性例数用 FN 表示,各种检测方法检测非地贫组的阳性例数用 FP 表示,各种检测方法检测非地贫组的阴性例数用 TN 表示。

1.6 统计学分析 采用 SPSS 19.0 进行地中海贫血与 MCV、MCH、HbA₂ 间的关联等统计学分析。采用配对数据的 χ^2 检验比较两者的诊断价值, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。以基因诊断结果为金标准受试者工作曲线(ROC)评价各项指标在地中海贫血防控中的价值。

2 结果

2.1 不同地贫血液学表型分析 与非地贫组相比,地贫组的 MCV、MCH、HbA₂ 阳性率明显增高($P<0.05$),其中 MCV 阳性率为 71.79%(168/234),MCH 阳性率为 78.63%(184/234),HbA₂ 阳性率为 69.66%(163/234)。地贫组中轻型 β -地贫组三项指标阳性率最高,轻-中型 α -地贫组其次,静止型 α -地贫组阳性率最低,见表 1。

表 1 不同人群 3 种血液学表型阳性率比较

组别	人数	MCV		MCH		HbA ₂	
		阳性数	阳性率(%)	阳性数	阳性率(%)	阳性数	阳性率(%)
静止型 α -地贫组	71	7	9.86	23	32.39	25	35.21
轻-中型 α -地贫组	93	91	97.85	91	97.85	71	76.34
轻型 β -地贫组	70	70	100.00	70	100.00	67	95.71
非地贫组	1 768	18	1.02	80	4.52	168	9.50

2.2 ROC 曲线 对地贫组和非地贫组的测定结果进行单项及组合分析,以敏感性为纵坐标,以(1-特异性)为横坐标,作图绘成 ROC 曲线,各组合的 ROC 曲线见图 1~图 5。

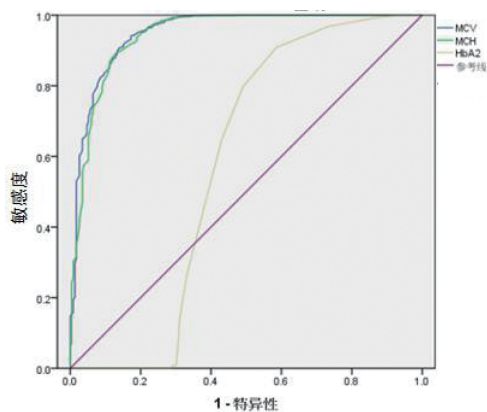
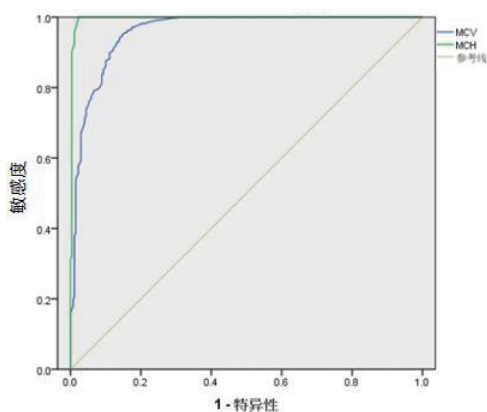
图 1 MCV、MCH、HbA₂ 的 ROC 曲线

图 2 两项目并联试验 ROC 曲线

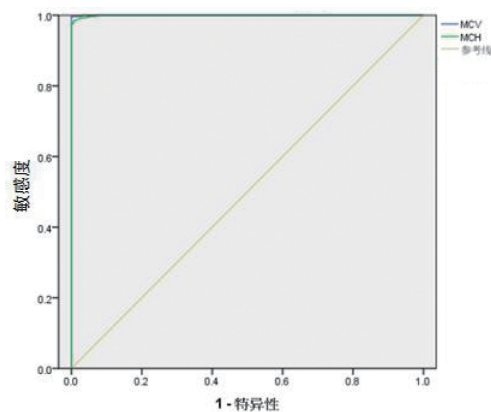


图 3 两项目串联试验 ROC 曲线

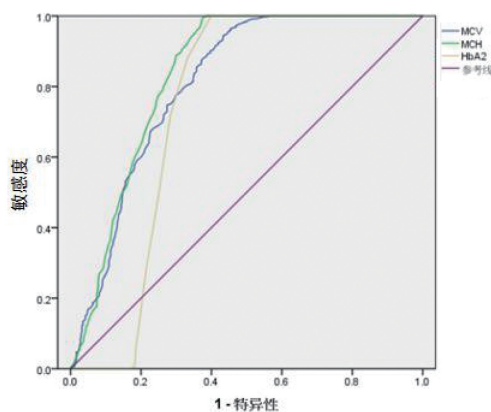


图 4 三项目并联试验 ROC 曲线

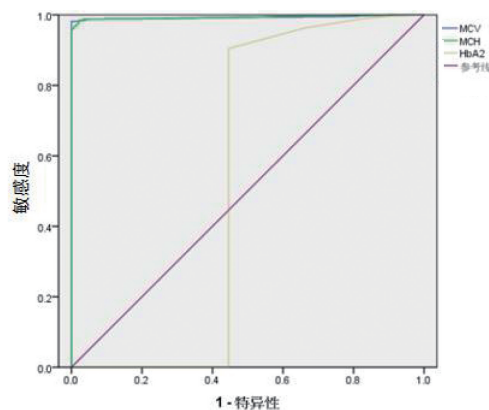


图 5 三项目串联试验 ROC 曲线

2.3 3 种血液学表型指标在地中海贫血筛查中灵敏度、特异性和诊断符合率分析 根据图 1~图 5, 将 ROC 曲线所得的各项评价指标结果绘制成表格, 见表 2。结果显示三项目并联试验灵敏度最高, 为 87.18%, 三项目串联试验的特异最高, 为 99.55%, 两项目串联试验诊断符合率最高, 为 96.05%。三项目并联试验的灵敏度明显高于三项目串联试验, 差异有统计学意义 ($P<0.05$), 三项目串联试验的特异性明显高于三项目并联试验, 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。但两项目并联试验的灵敏度略低于三项目并联试验, 特异性和诊断符合率略低于三项目串联试验, 差异无统计学意义 ($P>0.05$)。

表 2 3 种血液学表型指标在地贫筛查中灵敏度、特异性和诊断符合率对比

指标	Se (%)	Sp (%)	PPV (%)	NPV (%)	Ac (%)
MCV	71.79	98.98	90.32	96.37	95.80
MCH	78.63	94.34	69.70	97.12	93.51
HbA ₂	69.66	90.50	49.24	95.75	88.06
两项目并联试验	79.06	95.13	68.26	97.16	93.26
两项目串联试验	71.37	99.32	93.29	96.32	96.05
三项目并联试验	87.18	87.16	47.33	98.09	87.16
三项目串联试验	59.83	99.55	94.59	94.93	94.91

注: 两项目为 MCV 和 MCH, 三项目为 MCV、MCH 和 HbA₂。

3 讨论

地中海贫血作为一种遗传性疾病, 由于携带者可完全无临床症状, 加之民众对地中海贫血的认识薄弱, 医务人员对地贫的宣教不到位, 少有夫妇在孕前进行地贫的筛查和基因诊断, 永州 2014 年被国家卫生计生委列为地中海贫血防控试点项目地区^[11], 属于地中海贫血的高发地区, 在育龄人群中通过筛查检出高风险夫妇进而对其进行产前诊断防止重型患儿出生是控制该病的最有效途径^[12-14], 也是提高出生人口素质最为行之有效的方法。

地贫是一种小细胞低色素性贫血, 对红细胞指数

会产生一定的影响,有文献报道红细胞指数对地中海贫血筛查和诊断非常重要^[15-16]。本研究中,笔者以 MCV 或 MCH 降低作为地贫筛查的依据,除静止型 α -地贫外,其灵敏度、特异性和诊断符合率都接近 95%,特别是 β -地贫诊断灵敏度达到 100%。有研究表明,MCV、MCH 是筛查地贫最佳红细胞参数^[17-18],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^[19],本文研究结论与该研究一致。

α -地贫是由于 α 链的合成减少或缺失,一般表现为 HbA₂ 降低, β -地贫由于 β -链的合成减少,HbA 降低进而 HbA₂ 升高, β -复合 α -地贫的 HbA₂ 也表现为升高^[20]。本研究中 HbA₂ 对 β -地贫诊断的灵敏度高达 95.71%,而对轻-中型 α -地贫诊断的灵敏度偏低,只有 76.34%,特别是静止型 α -地贫低至 35.21%。因此,可以根据 HbA₂ 的检测值对地贫进行筛查,并初步进行分型^[21]。本文研究结论与韦昌宁^[22]的研究结论一致。

通过基因检测结果进一步分析发现,MCV、MCH、HbA₂ 的变化程度与基因缺失或突变的片段大小成正比,也发现假阴性的标本中有很大部分 HbA₂ 的结果处于临界范围,若人为把 CUT-OFF 值降低至 < 2.7%,轻型 β -地贫和轻-中型 α -地贫灵敏度可达到 100%,静止型 α -地贫灵敏度可达到 60.5%,但特异性和准确度也会下降到 65.6% 和 67.7%,假阳性增高。本研究中,笔者发现,应用两项目并联试验进行地中海贫血筛查效果最好;应用三项并联试验筛查 β -地贫价值最优,筛查 α -地贫有较高的漏检率,对于以缺铁性贫血最为常见的其他一些小细胞低色素性贫血产生的干扰,临床上可通过测定血清铁蛋白和铁剂治疗观察 MCV、MCH 指标加以鉴别。

综上所述,通过 MCV、MCH、HbA₂ 的串联试验可以筛查出绝大部分 β -地贫,通过并联试验可以筛查出绝大部分轻-中型地贫。针对育龄人群地中海贫血的防控策略,在地贫高发地区,笔者建议以 MCV 和 MCH 为筛查指标,MCV 或 MCH 筛查阳性则进一步电泳分析 HbA₂ 为分型指标(调整切值),既简化筛查程序,又经济有效。MCV 或 MCH 筛查阳性且 HbA₂ \geq 3.5% 的行 $\alpha + \beta$ 地贫基因诊断,MCV 或 MCH 筛查阳性且 HbA₂ < 3.5% 的行 α 地贫基因诊断。为避免假阴性造成出生中重型地贫患儿,夫妇一方确诊为地贫携带者,即使其配偶 MCV 或 MCH 筛查阴性,仍建议其进一步行同型地贫基因诊断,可检出没有血液表型的地贫携带者(特别是静止型 α -地贫),最大程度发现高风险

夫妇并及时行产前诊断。

本研究通过对地中海贫血与 MCV、MCH、HbA₂ 相关性分析,初步了解永州地区不同地中海贫血基因型的血常规参数,为地中海贫血防控体系的建立提供科学依据,对促进永州地区地中海贫血防治工作,防止重症地贫患儿出生有重要指导意义,对提高永州地区人口质量具有重大社会和经济效益。

参考文献

- [1] 阎志杰,吴冠芸,王荣新. 非缺失型 Hb H 病基因突变类型的研究[J]. 中华血液学杂志, 1994, 15(8): 393-395.
- [2] Wen XJ, Liang S, Jin Q, et al. The nondeletional types of HbH disease in Guangxi[J]. Hemoglobin, 1992, 16(1): 45-50.
- [3] 陈美钰,陈坚,黄淑贞. 应用长片段 PCR 技术检测 α 珠蛋白基因组织的异常[J]. 中华血液学杂志, 1997, 18(10): 529-531.
- [4] 赵永忠,钟梅,刘忠英. PCR 技术快速检测常见缺失型 α -地中海贫血-2 基因[J]. 中华医学遗传学杂志, 2001, 18(3): 216-218.
- [5] 周玉球,莫秋华,卢金汉,等. 基于社区水平的珠海市大人种群地中海贫血的遗传筛查和产前诊断[J]. 中华医学遗传学杂志, 2008, 25(3): 256-261.
- [6] 陈亚军,贾世奇,陈培院,等. 广东韶关市城镇人群 α 和 β 地中海贫血的分子流行病学调查[J]. 湖南师范大学报:医学版, 2005, 2(1): 40-45.
- [7] 徐湘民,廖灿,刘忠英,等. β -地中海贫血的大人群筛查及产前诊断[J]. 中华医学遗传学杂志, 1996, 13(5): 258-262.
- [8] Traeger-Synodinos J, Harteveld CL, Old JM, et al. EMQN Best Practice Guidelines for molecular and haematology methods for carrier identification and prenatal diagnosis of the haemoglobinopathies[J]. Eur J Hum Genet, 2015, 23(4): 560.
- [9] 徐湘民,张新华,陈莉丽. 地中海贫血预防控制操作指南[M]. 北京:人民军医出版社, 2011: 13-30.
- [10] Lin M, Zhu JJ, Wang Q, et al. Development and evaluation of a reverse dot blot assay for the simultaneous detection of common alpha and beta thalassemia in Chinese[J]. Blood Cells Mol Dis, 2012, 48(2): 86-90.
- [11] 国家卫生计生委. 《国家卫生计生委妇幼司关于做好 2014 年地中海贫血防控试点项目全覆盖工作的通知》[Z]. 2014-10-5.
- [12] 陈忠领,魏新燕,范美珍,等. 血红蛋白电泳在地中海贫血筛查中的应用研究[J]. 现代预防医学, 2007, 34(6): 1132-1134.
- [13] 余相,林玉甜,陈江涛. 广东惠州市城镇人群 α 、 β 地中海贫血流行病学调查及突变类型分析[J]. 当代医学, 2013, 19(1): 160-161.
- [14] 李敏清,陆雪梅,简文倩,等. 广西各民族地中海贫血基因型分布及产前诊断分析[J]. 中国妇幼保健, 2016, 31(3): 541-543.
- [15] 喻晶,何柏林,卢丽华,等. 采用 ROC 曲线评价血液学指标对单基因缺失型珠蛋白生成障碍性贫血的诊断价值[J]. 现代检验医学杂志, 2014, 29(2): 48-51.
- [16] 冉键,裴元元,魏凤香. 深圳地区 α -地中海贫血及 $\alpha\beta$ -复合地中海贫血的相关性研究[J]. 中国妇幼保健, 2016, 31(7): 1468-1471.
- [17] 林金瑞,李介华,朱振杰,等. ROC 曲线评价红细胞参数在早期妇女筛查地中海贫血中的应用价值[J]. 广东医学, 2014, 35(9): 1397-1399.
- [18] 胡静云,陈善昌,赖万强,等. MCV、MCH 在产前筛查地中海贫血中的应用价值[J]. 国际医学遗传学杂志, 2010, 33(5): 277-279.
- [19] Liao C, Li DZ. $\alpha 0$ -Thalassemia trait with normal red cell indices: a report of two cases[J]. Hemoglobin, 2012, 36(6): 589-591.
- [20] 李妹燕,韦敬锡,吴惠珍,等. 轻型地中海贫血患者妊娠期血红蛋白、铁蛋白水平及妊娠结局分析[J]. 山东医药, 2014, 54(1): 17-19.
- [21] 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.
- [22] 韦昌宁. MCV、MCH 与血红蛋白 A₂ 检测用于地中海贫血筛查的价值分析[J]. 医药前沿, 2016, 25(1): 71-72.