

ROC 曲线确定血红蛋白 A₂ 筛查 α 地中海贫血的临界值*李育敏, 覃俊龙, 熊 丹, 阙丽娟, 张水兰, 汤花梅, 张秀明[△]

(深圳市罗湖区人民医院医学检验科, 广东深圳 518001)

摘 要:目的 确定该实验室全自动毛细管电泳法检测血红蛋白 A₂(HbA₂) 在 α 地中海贫血(简称地贫)筛查中的临界值。方法 收集该实验室 2016 年 7 月至 2017 年 8 月进行地贫筛查和基因诊断的外周血样本 3 654 例。采用全自动毛细管电泳法分析 HbA₂ 相对含量, 跨越断裂点聚合酶链反应(Gap-PCR)法和 PCR 结合反向点杂交(PCR-RDB)法检测地贫基因。计算灵敏度、特异度、阴性似然比和阳性似然比, 绘制受试者工作特征曲线(ROC 曲线)确定 HbA₂ 筛查不同类型 α 地贫的最佳临界值。**结果** 健康对照、静止型 α 地贫、轻型 α 地贫和中间型 α 地贫的 HbA₂ 结果分别为 $(2.7 \pm 0.25)\%$ 、 $(2.6 \pm 0.28)\%$ 、 $(2.4 \pm 0.20)\%$ 和 $(1.4 \pm 0.69)\%$ 。HbA₂ 筛查静止型、轻型和中间型 α 地贫 ROC 曲线下面积分别为 0.631、0.860 和 0.975; 最佳截断值分别为 $<2.75\%$ 、 $<2.65\%$ 和 $<2.45\%$; 灵敏度分别为 53.7%、80.9% 和 91.7%; 特异度分别为 64.7%、77.7% 和 94.7%。**结论** 全自动毛细管电泳法检测 HbA₂ 对筛查非静止型 α 地贫有较好的价值, 结合方法学和临床诊断需求, 该实验室选择 $<2.7\%$ 作为 HbA₂ 筛查 α 地贫的最佳截断值, 以降低 α 地贫的漏筛率。

关键词:地中海贫血; α 地中海贫血; 血红蛋白 A₂; 受试者工作特征曲线

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2018.22.017 中图法分类号:R556

文章编号:1673-4130(2018)22-2786-04 文献标识码:A

Value of determining hemoglobin A₂ by ROC curve for screening of α -thalassemia*

LI Yumin, QIN Junlong, XIONG Dan, KAN Lijuan, ZHANG Shuilan,

TANG Huamei, ZHANG Xiuming[△]

(Department of Medical Laboratory, Shenzhen Luhui People's Hospital,

Shenzhen, Guangdong 518001, China)

Abstract: **Objective** To determine value of Hemoglobin A₂(HbA₂) by the full automatic capillary electrophoresis for Screening α -thalassemia. **Methods** A total of 3 654 peripheral blood samples for screening and genetic diagnosis of thalassemia in the laboratory from July 2016 to August 2017 were collected. The HbA₂ level was analyzed by the full automatic capillary electrophoresis and the genotypes of thalassemia were detected by Gap-PCR and PCR-RDB. The sensitivity, sepecificity, negative likelihood ratio and positive likelihood ratio were calculated and the areas under receiver operator characteristic (ROC) curve of screening α -thalassemia by HbA₂ were drawn. **Results** The HbA₂ results of normal group, silent group, light group and intermedia group of α -thalassemia were $(2.7 \pm 0.25)\%$ 、 $(2.6 \pm 0.28)\%$ 、 $(2.4 \pm 0.20)\%$ and $(1.4 \pm 0.69)\%$. The optimal cutoff values of HbA₂ for screening of silent α -thalassemia, light α -thalassemiat and intermedia α -thalassemia were $<2.75\%$ 、 $<2.65\%$ and $<2.45\%$, respectively; the ROC curve were 0.631, 0.860 and 0.975 respectively; the sensitivities were 53.7%, 80.9% and 91.7%, and the specificities were 64.7%, 77.7% and 94.7% respectively. **Conclusion** Automatic capillary electrophoresis detection of HbA₂ is of better value for the screening of non-silent α -thalassemia. Our laboratory selected $<2.7\%$ as the optima cutoff value of HbA₂ for screening of α -thalassemia, in order to reduce the missed screening rate of α -thalassemia.

Key words: thalassemia; α -thalassemia; HbA₂; ROC curve

地中海贫血(简称地贫)是一组由珠蛋白基因缺失或突变导致肽链合成障碍而引起的遗传性溶血性

贫血, 以 α 型和 β 型地贫较常见。血红蛋白 A₂(HbA₂) 作为地贫筛查的主要指标之一具有较好的筛

* 基金项目: 深圳市医疗卫生三名工程资助项目(SZSM201601062)。

作者简介: 李育敏, 女, 主治医师, 主要从事血红蛋白疾病方面的研究。 [△] 通信作者, E-mail: zxm0760@163.com。本文引用格式: 李育敏, 覃俊龙, 熊丹, 等. ROC 曲线确定血红蛋白 A₂ 筛查 α 地中海贫血的临界值[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(22): 2786-

查价值。研究表明 HbA₂ 对 β 地贫筛查的灵敏度和特异度较高, HbA₂ 的截断值(≥3.5%)与 β 地贫基因检测的符合率较高, 因此 HbA₂ 对 β 地贫具有较高的筛查价值; 但是 HbA₂ 对 α 地贫筛查的灵敏度和特异度均不如 β 地贫, 仅对非静止型 α 地贫有较好的筛查价值, 主要对中间型 α 地贫的筛查准确性较好^[1-12]。广东省 α 地贫基因携带率明显高于 β 地贫^[13]。中国卫生和计划生育委员会在 2014 年颁布的地贫防控试点项目技术服务规范中明确指出各实验室应建立本实验室的 HbA₂ 正常参考值^[14]。目前实验室对血红蛋白组分的检测方法较多, 如琼脂糖电泳、毛细管电泳和高效液相色谱等, 不同的方法学和仪器对 HbA₂ 检测的影响因素较多。本研究结合自身检测方法(毛细管电泳法)和临床诊断需求, 建立适合本实验室 HbA₂ 筛查 α 地贫的临界值, 以降低 α 地贫的漏筛率。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2016 年 7 月至 2017 年 8 月来本院进行地贫筛查和地贫基因诊断的 3 654 例样本, 其中静止型 α 地贫 287 例, 轻型 α 地贫 424 例, 中间型 α 地贫 12 例, 基因检测结果阴性 2 931 例(健康对照), 年龄在 3 岁以上。所有的 α 地贫携带者均排除 α 地贫复合 β 地贫及异常血红蛋白等情况。

1.2 方法

1.2.1 血红蛋白电泳分析 采集受检者外周静脉全血 2 mL, 肝素钠抗凝。应用 Sebia capillary2 毛细管电泳仪及配套试剂(法国 sebia 公司)对外周静脉全血进行血红蛋白电泳分析。所有操作均按仪器及试剂操作说明书进行。

1.2.2 地贫基因检测 采集受检者外周静脉全血 2 mL, EDTA-K₂ 抗凝。采用地贫基因诊断试剂盒(深圳亚能生物技术有限公司)对外周静脉全血进行地贫基因检测, 按照试剂盒说明书对外周血标本提取 DNA。采用 Gap-PCR 和 PCR-RDB 方法检测常见的 3 种缺失型 α-地贫(—SEA、—α^{4.2}、—α^{3.7})和 3 种非缺失型 α-地贫(HbCS、HbWS、HbQS)以及 17 种常见

的 β-地贫基因突变类型(—28、—29、CD17、CD 41—42、CD43、βE、CD71—72、IVS-Ⅱ—654、—32、—30、CAP、Initiation condon、CD14—15、CD27—28、IVS-I—1、IVS-I—5、CD31)。

1.2.3 统计学处理 采用 SPSS19.0 软件进行数据的统计学处理, 以 P<0.05 为差异有统计学意义。以地贫基因诊断为“金标准”, 计算灵敏度、特异度、约登指数、阴性似然比和阳性似然比, 绘制受试者工作特征曲线(ROC 曲线)。

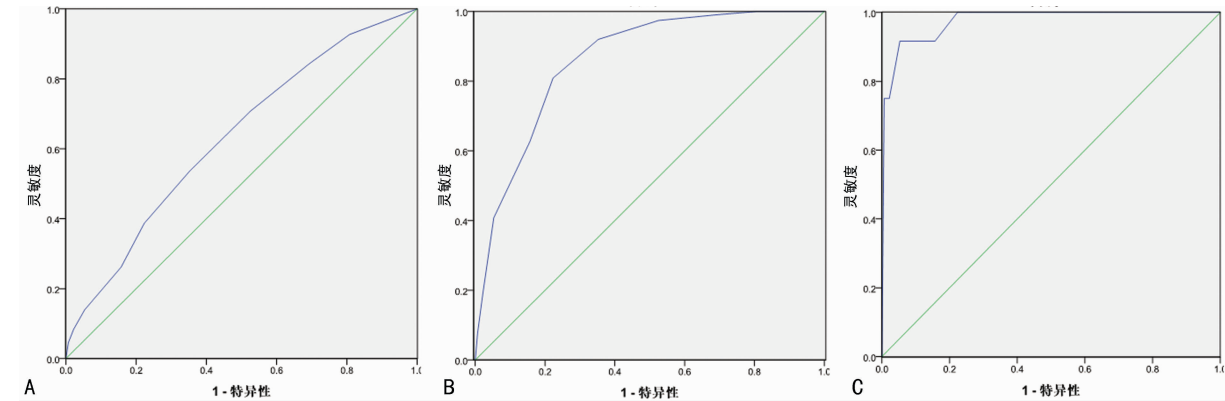
2 结果

2.1 地贫基因检测结果 检出静止型 α 地贫 287 例, 轻型 α 地贫 424 例, 中间型 α 地贫 12 例, 基因检测阴性 2 931 例, 各基因型分布见表 1。

2.2 HbA₂ 检测结果 正常对照、静止型 α 地贫、轻型 α 地贫和中间型 α 地贫的 HbA₂ 分别为(2.7±0.3)%、(2.6±0.3)%、(2.4±0.2)%和(1.4±0.7)%。具体各基因型 HbA₂ 结果见表 1。

表 1 α 地中海贫血的基因型与 HbA ₂ 的关系		
分组	n	HbA ₂ ($\bar{x} \pm s, \%$)
健康对照(αα/αα)	2 931	2.7±0.3
静止型 α 地贫	287	2.6±0.3
—α ^{3.7} /αα	160	
—α ^{4.2} /αα	46	
α ^{CS} α/αα	19	
α ^{WS} α/αα	19	
α ^{QS} α/αα	29	
HKαα/αα 或 HKαα/—α ^{3.7}	14	
轻型 α 地贫	424	2.4±0.2*
—SEA/αα	418	
—α ^{3.7} /—α ^{3.7}	2	
—α ^{3.7} /—α ^{4.2}	2	
—THAI/αα	2	
中间型 α 地贫	12	1.4±0.7*
—SEA/—α ^{3.7}	5	
—SEA/—α ^{4.2}	3	
—SEA/α ^{CS} α	1	
—SEA/α ^{WS} α	1	

注:与健康对照相比, * P<0.05



注: A 为静止型; B 为轻型; C 为中间型

图 1 HbA₂ 筛查不同类型 α 地贫的 ROC 曲线

2.3 HbA₂ 的 ROC 曲线 以基因诊断为“金标准”，将 HbA₂ 测定值按组分层计算灵敏度、特异度、阴性似然比和阳性似然比，共 10 组连续分组的数据，见表 2。以 1－特异度为横坐标，灵敏度为纵坐标，绘制 HbA₂ 指标的 ROC 曲线(图 1)。HbA₂ 筛查静止型、轻型和中间型 α 地贫 ROC 曲线下面积(AUC)分别为

0.631、0.860 和 0.975， $P<0.05$ 。以约登指数(灵敏度＋特异度－1)的最大值处为最佳界值，诊断静止型、轻型和中间型 α 地贫 HbA₂ 最佳截断值分别为<2.75%、<2.65% 和 <2.45%，其灵敏度分别为 53.70%、80.90% 和 91.70%，特异度分别为 64.70%、77.70% 和 94.70%。

表 2 HbA₂ 筛查不同类型 α 地贫及评价指标

HbA ₂	静止型 α 地贫				轻型 α 地贫				中间型 α 地贫			
	灵敏度(%)	特异度(%)	阳性似然比	阴性似然比	灵敏度(%)	特异度(%)	阳性似然比	阴性似然比	灵敏度(%)	特异度(%)	阳性似然比	阴性似然比
<2.2	4.53	99.33	6.77	0.96	7.78	99.33	11.63	0.93	75.00	99.33	112.08	0.25
<2.3	8.36	97.83	3.85	0.94	19.10	97.83	8.78	0.83	75.00	97.83	34.49	0.26
<2.4	13.93	94.69	2.62	0.91	40.80	94.69	7.68	0.63	91.67	94.69	17.26	0.09
<2.5	26.13	84.32	1.67	0.88	62.74	84.32	4.00	0.44	91.67	84.32	5.84	0.10
<2.6	38.68	77.71	1.73	0.79	80.90	77.71	3.63	0.25	100.00	77.71	4.49	0.00
<2.7	53.66	64.74	1.52	0.72	91.98	64.74	2.61	0.12	100.00	64.74	2.84	0.00
<2.8	70.73	47.51	1.35	0.62	97.41	47.51	1.86	0.05	100.00	47.51	1.91	0.00
<2.9	84.32	30.74	1.22	0.51	99.06	30.74	1.43	0.03	100.00	30.74	1.44	0.00
<3.0	92.68	19.24	1.15	0.38	100.00	19.24	1.24	0.00	100.00	19.24	1.24	0.00
≤3.5	100.00	0.00	1.00	0.00	100.00	0.00	1.00	0.00	100.00	0.00	1.00	0.00

3 讨 论

我国《地中海贫血预防控制操作指南》及世界地贫联合会推荐，地贫的常规实验室检测包括地贫筛查和地贫基因诊断，前者包括红细胞参数和血红蛋白分析，后者主要观察指标之一是 HbA₂ 的相对水平^[14]。HbA₂ 增高可初步推断为 β 地贫，HbA₂ 降低为 α 地贫，但是受很多因素的限制导致 HbA₂ 对 α 地贫筛查的灵敏度和特异度较 β 地贫低。首先，HbA₂ 的相对水平受许多疾病因素的影响，如缺铁性贫血也可导致 HbA₂ 降低；其次，静止型 α 地贫的血液学表型通常表现为正常；第三，不同的检测方法和仪器会影响灵敏性，如琼脂糖电泳对 HbA₂ 的检测灵敏性不如毛细管电泳；第四，α 珠蛋白基因缺失引起 α 肽链合成减少，β 肽链相对增多，导致 δ 肽链合成相应降低，使 HbA₂ 降低；反之 β 珠蛋白基因缺失引起 β 肽链合成减少，δ 肽链合成代偿性增多，过剩的 α 肽链与 δ 肽链结合，导致 HbA₂ 增高，这表明 β 地贫引起的 HbA₂ 增多为直接反应，而 α 地贫引起的 HbA₂ 降低可以通过调控 δ 肽链合成降低的间接反应，所以 α 地贫引起的 HbA₂ 降低不如 β 地贫的 HbA₂ 增高明显，因此建立适合本实验室 HbA₂ 的参考区间对地贫筛查具有重要意义。

本研究分析健康对照、静止型、轻型和中间 α 地贫以及具体各基因型与 HbA₂ 的关系，结果同已报道的研究资料基本相符^[6-7,14]；其次采用 ROC 曲线分析 HbA₂ 在 α 地贫筛查中的临界值。由于地贫基因异质

性较大，不同的基因缺失或突变类型对表型可产生不同程度的影响，导致不同类型的 α 地贫患者表型各异，静止型可表现为正常，而轻型和中间型的变异程度较大。因此各实验室有必要根据表型不同来分析各类型 α 地贫的 HbA₂ 临界值，结合临床诊断需求和方法学来建立适合本实验室地贫筛查的最佳临界值。中间型 α 地贫受 Hb H 带的影响，HbA₂ 显著降低，HbA₂ 指标结合 Hb H 带对中间型 α 地贫筛查的准确性较好。本研究 HbA₂ 筛查中间型 α 地贫的 AUC(0.975)也表明 HbA₂ 对中间型 α 地贫的诊断价值较高。轻型 α 地贫携带者 HbA₂ 部分表现为正常，部分降低，在本研究中 HbA₂ 为(2.4±0.2)%，HbA₂ 筛查轻型 α 地贫 AUC 为 0.860，诊断价值中等。静止型携带者 HbA₂ 通常表现为正常，在本研究中 HbA₂ 为(2.6±0.3)%，HbA₂ 筛查静止 α 地贫 AUC 为 0.631，诊断价值较低。本实验室 HbA₂ 的检测方法为毛细管电泳法，目前采用参考区间为 2.5%～3.5%。本研究表明诊断静止型、轻型和中间型 α 地贫 HbA₂ 最佳截断值分别为 2.75%、2.65% 和 2.45%，其灵敏度分别为 53.70%、80.90% 和 91.70%，特异度分别为 64.70%、77.70% 和 94.70%，说明目前以 2.5% 为界值可能漏筛大量静止型和轻型 α 地贫，而——SEA 缺失型 α 地贫占轻型 α 地贫的 98.6%(418/424)，其漏诊会导致重型 α 地贫患儿出生，而静止型 α 地贫的漏诊可导致中间型地贫患儿出生。骆明勇等^[7]采用毛细管电泳法检测 HbA₂，通过

ROC 曲线分析选择将 HbA₂ 筛查 α 地贫的最佳截断值定为 <2.7%。结合本研究数据以及方法学和临床诊断需求,考虑可选择 <2.7% 作为本实验室 HbA₂ 筛查 α 地贫的最佳截断值。

本研究采用目前常用的确定截断点的方法建立本实验室 HbA₂ 筛查 α 地贫的最佳临界值,对指导临床地贫筛查阳性者进一步做基因诊断具有极其重要的意义,并为实验室采用毛细管电泳方法检测 HbA₂ 确定参考区间提供参考数据。但是由于 HbA₂ 筛查静止型和轻型 α 地贫的诊断价值分别为较低和中等,临床对地贫筛查必须结合红细胞参数指标进行综合分析,以提高 α 地贫筛查的准确性和避免中间型和重型 α 地贫患儿的出生。

4 结 论

全自动毛细管电泳法检测 HbA₂ 对筛查非静止型 α 地贫有较好的价值。结合方法学和临床诊断需求,本实验室选择 <2.7% 作为 HbA₂ 筛查 α 地贫的最佳截断值。

参考文献

[1] 冯桂玲,林桢,林敏,等. ROC 曲线评价 β 地中海贫血血红蛋白 A2 的诊断价值[J]. 实用医学杂志, 2013, 29(13): 2187-2189.

[2] 喻晶,刘美菊,刘晓翌,等. 采用 ROC 曲线评价 β 珠蛋白生成障碍性贫血杂合子血液学指标诊断价值[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(5): 530-531.

[3] 曾劲伟,杨光,崔金环,等. 高效液相色谱法检测血红蛋白 A2 诊断 β-地中海贫血携带者的最佳阈值[J]. 中国循证医学杂志, 2009, 9(8): 828-831.

[4] 汤丽霞,李仲笑,张晶,等. 血红蛋白 A2 在地中海贫血筛查中的应用价值[J]. 中国循证医学杂志, 2005, 5(1): 47-

50.

[5] 霍梅,吴文苑,刘妹,等. 中国深圳地区孕妇毛细管血红蛋白电泳筛查地中海贫血截断值的探讨[J]. 中国实验血液学杂志, 2016, 24(2): 536-539.

[6] 何天文,余丽华,郭浩,等. ROC 曲线分析血红蛋白 A2 筛查地中海贫血的价值[J]. 中国实验血液学杂志, 2016, 24(6): 1828-1832.

[7] 骆明勇,王雄虎,郭浩,等. 确定血红蛋白 A2 筛查 α 地中海贫血临界值的方法探讨[J]. 中国产前诊断杂志, 2016, 8(2): 1-3.

[8] 张新华,周艳洁,李平萍,等. 国产全自动电泳系统检测 HbA₂ 诊断 β 珠蛋白生成障碍性贫血[J]. 临床检验杂志, 2007, 25(1): 65-67.

[9] 张新华,李平萍,罗瑞贵,等. 高效液相色谱法定量分析 HbA₂ 在珠蛋白生成障碍性贫血筛查中的应用[J]. 临床检验杂志, 2007, 25(3): 172-173.

[10] 李莉艳,李强宋,兰林靳,等. MCV、MCH 和血红蛋白 A2 检测在地中海贫血筛查中的价值[J]. 中华妇产科杂志, 2012, 47(2): 96-100.

[11] 许伟华,刘冬霞,龙辉,等. 毛细管电泳血红蛋白 A2 增高对诊断 β 珠蛋白生成障碍性贫血符合率分析及应用价值[J]. 国际检验医学杂志, 2017, 38(4): 458-460.

[12] 阮丽明,周艳洁,朱茂灵,等. 全自动毛细管电泳法定量测定血红蛋白 A2 快速筛查 β 珠蛋白生成障碍性贫血的应用评价[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(19): 2313-2316.

[13] 刘玲,蒋玮莹,许世艳,等. 广东地区地中海贫血致病基因的基因型及 β 珠蛋白基因多态性研究[J]. 中华血液学杂志, 2013, 34(7): 595-599.

[14] 徐湘民,张新华,陈荔丽. 地中海贫血预防控制操作指南[M]. 北京:人民军医出版社, 2011: 55-59.

(收稿日期:2018-04-14 修回日期:2018-07-04)

(上接第 2785 页)

et al. Procalcitonin as a diagnostic test for sepsis in critically ill adults and after surgery of trauma: a systematic review and meta-analysis[J]. Crit Care Med, 2006, 34(7): 1996-2003.

[10] LEE C C, HONG M Y, LEE N Y, et al. Pitfalls in using serum C-reactive protein to predict bacteremia in febrile adults in the ED[J]. Am J Emerg Med, 2012; 30(4): 562-569.

[11] DE KRUIF M D, LIMPER M, GERRITSEN H, et al. Additional value of procalcitonin for diagnosis of infection in patients with fever at the emergency department[J]. Crit Care Med, 2010, 38(2): 457-463.

[12] PETERS R P H, TWISK W R, VAN AGTMAEL M A, et al. The role of procalcitonin in a decision tree for prediction of bloodstream infection in febrile patients[J]. Clin Microbiol Infect, 2006, 12(12): 1207-1213.

[13] ODA S, HIRASAWA H, SHIGA H, et al. Sequential

measurement of IL-6 blood levels in patients with systemic inflammatory response syndrome (SIRS/sepsis) [J]. Cytokine, 2005, 29(4): 169-175.

[14] NAHID A M, SUGII S. Binding of porcine ficolin-α to lipopolysaccharides from Gram-negative bacteria and lipoteichoic acids from Gram-positive bacteria [J]. Dev Comp Immunol, 2006, 30(3): 335-343.

[15] 陈炜,赵磊,牛素平,等. 不同炎症因子对细菌性血流感染所致脓毒症患者的早期诊断价值[J]. 中华危重病急救医学, 2014, 26(3): 165-170.

[16] JUNYAN Q, XIAOJU L, YANBIN L, et al. Evaluation of procalcitonin, C-reactive protein, interleukin-6 & serum amyloid A as diagnostic biomarkers of bacterial infection in febrile patients[J]. Indian J Med Res, 2015, 114(3): 315-321.

(收稿日期:2018-04-14 修回日期:2018-06-30)