

诊,从而错过最佳治疗时期。传统的诺卡菌鉴定方法主要通过菌落的形态、生化反应、药敏结果及染色等,这些方法对鉴定有一定的帮助,本例患者通过对分泌物的涂片及染色初步判断可疑诺卡菌生长,但这些方法特异性不高并且很难鉴别到具体的种,无法精准的指导临床用药。因此,辅以一些新兴的实验室诊断方法,如基质辅助激光解吸/电离飞行时间质谱和 16 s RNA 测序技术,可极大地提高鉴定的准确度,从而为患者治疗赢得宝贵的时间。

综上所述,诺卡菌作为一种少见菌,临床表现缺乏特异性,因其所致的感染极易漏检和误诊,错过最佳治疗时期。传统的染色镜检、质谱、16 s RNA 测序等方法各有其优缺点,只有将它们充分利用,才能对这些临床生长缓慢、较为少见的致病菌及时准确的诊断,并辅以抗菌药物敏感性试验,从而及时为临床的治疗提供可靠的指导。对于临床医生,要重视原始标本的涂片及细菌培养,此外对于诺卡菌感染形成的脓肿,在抗感染治疗的同时及时清创更有利于感染控制及病情恢复。

参考文献

[1] JEONG J H, MOON S M, PARK P W, et al. Multiple brain abscesses caused by *Nocardia asiatica* in a patient with systemic lupus erythematosus: the first case report and literature review[J]. *Ann Lab Med*, 2017, 37(5): 459-461.

[2] MEHDI F. Nocardiosis from 1888 to 2017[J]. *Microb Pathog*, 2018, 114: 369-384.

[3] HUANG L, CHEN X, XU H, et al. Clinical features, identification, antimicrobial resistance patterns of *Nocardia* species in China: 2009—2017[J]. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2019, 94(2): 165-172.

[4] 周庭银, 章强强. 临床微生物诊断与图解[M]. 上海: 上海

科学技术出版社, 2017: 262-271.

[5] 祝欣, 张伟, 李雯, 等. IgA 肾病合并原发性皮肤诺卡菌病 1 例[J]. *中国皮肤性病学杂志*, 2020, 34(7): 814-816.

[6] KANDI V. Human *Nocardia* infections: a review of pulmonary nocardiosis[J]. *Cureus*, 2015, 7(8): e304.

[7] ZHU J W, ZHOU H, JIA W Q, et al. A clinical case report of brain abscess caused by *Nocardia brasiliensis* in a non-immunocompromised patient and a relevant literature review[J]. *BMC Infect Dis*, 2020, 20(1): 328.

[8] PIAU C, KERJOUAN M, LE MOUEL M, et al. First case of disseminated infection with *Nocardia cerradoensis* in a human[J]. *J Clin Microbiol*, 2015, 53(3): 1034-1037.

[9] 张盛斌, 朱红军, 林茂煌, 等. 肺诺卡菌病 12 例临床分析[J]. *中国感染与化疗杂志*, 2020, 20(4): 401-405.

[10] LI S, XU X, WU M, et al. Lymphocutaneous nocardiosis caused by *Nocardia brasiliensis* in an immunocompetent patient: a case report[J]. *J Int Med Res*, 2020, 48(1): 1-7.

[11] ERCIBENGOA M, VICENTE D, ARRANZ L, et al. Primary cutaneous *Nocardia brasiliensis* in a Spanish child[J]. *Clin Lab*, 2018, 64(10): 1769-1772.

[12] 邓琳, 李梦华, 钟剑波, 等. 急性原发性皮肤巴西奴卡菌感染[J]. *临床皮肤科杂志*, 2019, 48(1): 23-25.

[13] 葛武坤, 薛静俊, 章晓磊. 磺胺类药物过敏患者右手掌感染巴西诺卡菌 1 例[J]. *中国乡村医药*, 2020, 27(15): 46.

[14] CHU L, XU X, RAN Y. Primary cutaneous nocardiosis caused by *Nocardia brasiliensis* following a wasp sting[J]. *Clin Exp Dermatol*, 2017, 42(4): 416-419.

[16] 谢祎, 侯雪新, 徐帅, 等. 53 例诺卡菌感染病例临床特征分析[J]. *疾病监测*, 2015, 30(1): 14-18.

[17] VALDEZATE S, GARRIDO N, CARRASCO G., et al. Epidemiology and susceptibility to antimicrobial agents of the main *Nocardia* species in Spain[J]. *J Antimicrob Chemother*, 2017, 72(3): 754-761.

(收稿日期: 2020-10-19 修回日期: 2021-05-27)

• 个案分析 •

北方地区非缺失型 HbH 病复合 β -珠蛋白生成障碍性贫血孕妇 1 例

杜云玲, 孔令君, 张睿, 吴洁, 窦亚玲[△]

中国医学科学院北京协和医院检验科, 北京 100730

关键词: $\alpha\beta$ 复合型珠蛋白生成障碍性贫血; 血红蛋白 H 病; 血红蛋白 CS; 基因诊断

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2021. 13. 032

中图法分类号: R556

文章编号: 1673-4130(2021)13-1661-04

文献标志码: C

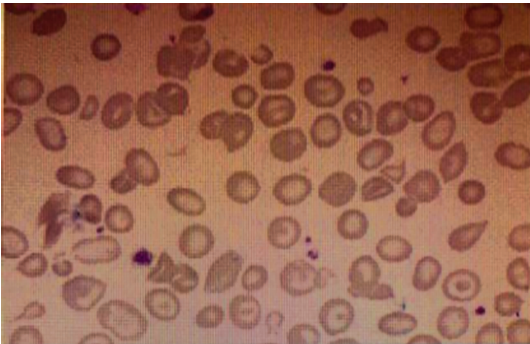
珠蛋白生成障碍性贫血是由于珠蛋白基因缺失或突变导致珠蛋白肽链合成障碍的一种溶血性贫血,

[△] 通信作者, E-mail: pumchdyl36@163. com.

其属于单基因遗传病,具有严重的危害性,可分为 α -珠蛋白生成障碍性贫血和 β -珠蛋白生成障碍性贫血^[1]。该病广泛分布于世界各地,全球约有 5.00% 的人口是 α -珠蛋白生成障碍性贫血的携带者,其中东南亚为高发区之一,在我国多见于南方地区,北方少见^[2-4]。血红蛋白 H 病(HbH)属于 α -珠蛋白生成障碍性贫血的中间型,分为缺失型 HbH 病和非缺失型 HbH 病。非缺失型 HbH 病是 2 个 α 基因缺失和 1 个 α 基因突变,结果只能合成少量正常 α 珠蛋白肽链,与多余的 β 链聚合形成异常的 HbH 四聚体(β_4),研究显示非缺失型 HbH 病比缺失型 HbH 病的临床症状表现更为严重^[5-6]。本研究对本院 1 例非缺失型 HbH 病复合 β -珠蛋白生成障碍性贫血孕妇的血液学特征和基因型进行分析,补充了复杂少见珠蛋白生成障碍性贫血基因类型的数据。此外,为临床咨询和产前干预提供依据,对降低珠蛋白生成障碍性贫血的发病率、促进优生优育具有重要意义^[7]。

1 资料与方法

1.1 一般资料 患者,女,36 岁,孕 7⁺ 周,2020 年 6 月 24 日于某院血液内科门诊进行孕前检查、珠蛋白生成障碍性贫血筛查。患者平时血红蛋白(Hb) 80 g/L,月经基本正常,2019 年自然流产 1 次,流产后 Hb 60 g/L。本次实验室检查,血常规联合网织红细胞分析:Hb 78 g/L,平均红细胞体积(MCV)62.4 fL,红细胞平均血红蛋白量(MCH) 16.3 pg,红细胞平均血红蛋白浓度(MCHC) 261 g/L,红细胞分布宽度(RDW) 21.00%,网织红细胞血红蛋白含量(RET%) 3.47%,网织红细胞血红蛋白含量(RET#) 166.10,网织红细胞血红蛋白(ChR) 21.10。外周血红细胞形态分析:红细胞大小不等,部分形态不规则,中心淡染区扩大,易见靶形红细胞,见图 1。Hb 电泳:HbA 93.30%,HbA2 2.50%,HbCS 1.60%,HbF 2.60%。



注:视野内可见多个靶形红细胞。

图 1 非缺失型 HbH 病复合 β -珠蛋白生成障碍性贫血孕产妇外周血红细胞形态

1.2 仪器与试剂

1.2.1 仪器 全自动血液分析仪 XN9100(日本 Sys-

mex 公司);全自动电泳仪 Minicap-FP(法国 Sebia 公司);天隆 NP968 核酸提取仪(西安天隆科技有限公司);Multiskan Go 紫外分光光度计(美国 Thermo 公司);Legend Micro17 离心机(美国 Thermo 公司);1300 Series A2 生物安全柜(美国 Thermo 公司);ABI Veriti96 PCR 仪;YN-H16 恒温杂交仪[亚能生物技术(深圳)有限公司];PowerPac Basic 电泳仪(美国 BioRad 公司);GelDoc XR 凝胶成像仪(美国 Bio-Rad 公司)。

1.2.2 试剂 Ex-DNA 全血基因组核酸提取或纯化试剂盒购自西安天隆科技有限公司; α -珠蛋白生成障碍性贫血基因检测试剂盒(gap-PCR 法)、非缺失型 α -珠蛋白生成障碍性贫血基因突变检测试剂盒(PCR-反向点杂交法)、 β -珠蛋白生成障碍性贫血基因检测试剂盒(PCR-反向点杂交法)购自亚能生物技术(深圳)有限公司。

1.3 方法

1.3.1 Hb 电泳 空腹静脉血 2 mL,EDTA 抗凝,采用法国 Sebia Minicap-FP 全自动毛细管电泳仪,严格按照 Hb 电泳标准操作规范,质控合格后上机检测,分离出各 Hb 成分和比例。可检出正常 Hb,包括 HbA、HbF 和 HbA2,还可检出异常 Hb,如 HbH、HbCS、HbE、HbS、HbD、HbG、HbBart's 等。

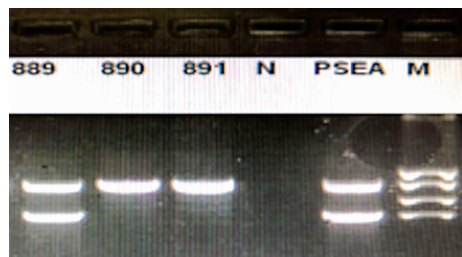
1.3.2 基因检测 严格按照试剂说明书进行操作。使用全血快速提取试剂盒从 EDTA 抗凝静脉血中提取全血基因组 DNA。缺失型 α -珠蛋白生成障碍性贫血基因检测采用 gap-PCR 方法,检测常见的 3 种类型:—^{SEA}、— $\alpha^{3.7}$ 、— $\alpha^{4.2}$ 。对 PCR 扩增产物进行 1.00% 琼脂糖凝胶(用 0.50% 的 TBE 配制琼脂糖)电泳,电压 90 V,电泳 70 min,根据电泳片段大小判断基因类型。采用 PCR-反向点杂交方法检测非缺失型 α -珠蛋白生成障碍性贫血基因和突变型 β -珠蛋白生成障碍性贫血基因,包括常见的 3 种非缺失型 α -珠蛋白生成障碍性贫血基因类型: α^{CS} (CD142, TAA → CAA)、 α^{QS} (CD125, CTG → CCG)、 α^{WS} (CD122, CAC → CAG),以及 17 种常见的突变型 β -珠蛋白生成障碍性贫血基因类型,分别为 CD41-42(—TTCT)、IVS-II-654(C → T)、—28(A → G)、CD17(AAG → TAG)、CD71-72(+A)、 βE (GAG → AAG)、—29(A → G)、CD43(GAG → TAG)、CD27/28(+C)、CD14-15(+G)、CD31(—C)、—32(C → A)、—30(T → C)、IVS-I-1(G → T)、IVS-I-5(G → C)、5'UTR;+40-+43(—AAAC)、起始密码子(ATG → AGG)。PCR 扩增产物与探针进行分子杂交及显色反应,观察膜条上各位点信号的有无(信号为蓝色斑点),确定患者的基

因型。

2 结 果

2.1 Hb 电泳分析结果 该孕产妇 HbA 降低,为 93.30%,HbA2 正常,为 2.50%,HbCS 升高,为 1.60%,HbF 升高,为 2.60%。

2.2 缺失型 α -珠蛋白生成障碍性贫血基因结果 该孕产妇为 SEA 缺失型 α -珠蛋白生成障碍性贫血,见图 2。



注:889 为本例患者,为 SEA 缺失型;890、891 为健康者;N 为阴性对照;PSEA 为 SEA 缺失型阳性对照;M 为 Marker。

图 3 缺失型 α -珠蛋白生成障碍性贫血琼脂糖凝胶电泳结果

2.3 非缺失型 α -珠蛋白生成障碍性贫血基因结果 该孕产妇 HbCS 突变型出现显色斑点,而 HbWS、HbQS 野生型出现显色斑点,结果为 HbCS 纯合突变。

2.4 突变型 β -珠蛋白生成障碍性贫血基因结果 该孕产妇 -28M 突变型出现显色斑点,而 41-42N、654N、-28N、71-72N、17N、 β EN、31N 野生型出现显色斑点,结果判断为 β 珠蛋白基因 -28(A→G) 杂合突变。

3 讨 论

本例孕妇 Hb 78 g/L 表现为中度贫血,MCV 62.4 fL,MCH 16.3 pg,MCHC 261 g/L,血象为小细胞低色素贫血。有研究表明, α -珠蛋白生成障碍性贫血复合 β -珠蛋白生成障碍性贫血后,由于 α -链合成减少的同时, β -链合成亦减少,二者的不平衡状态得以减轻,故患者的贫血程度较单纯的 α -珠蛋白生成障碍性贫血或单纯的 β -珠蛋白生成障碍性贫血杂合子患者可以得到一定程度的改善,其贫血症状也会有所减轻,表现为中间型珠蛋白生成障碍性贫血^[8]。

当进行 Hb 电泳检测时,相较于单纯的 HbH 病患者,HbH 病复合 β -珠蛋白生成障碍性贫血患者常出现 HbH 区带及 HbA2 水平明显升高的情况^[9]。另有研究^[10]报道,约 68.40% 的 HbH 病复合 β -珠蛋白生成障碍性贫血患者 HbA2 水平增高,31.60% 患者 HbA2 水平正常;此外,只有 5.20% 的 HbH 病复合 β -珠蛋白生成障碍性贫血患者会出现 HbH。本研究中患者 Hb 电泳出现 HbA2 水平正常,未检出 HbH,这与玉晋武

等^[10]报道一致,因为同时复合了 β -珠蛋白生成障碍性贫血,致使 β 链不再过剩,HbH 水平很低,导致进行 Hb 电泳分析时未见 HbH 区带。因此,当只依靠 Hb 电泳进行珠蛋白生成障碍性贫血筛查时,很容易漏检或误诊,临床在依据血液学参数的同时,必要时也应该进行珠蛋白生成障碍性贫血基因检测,以进一步明确诊断,为治疗提供可靠依据。

本例 α -珠蛋白生成障碍性贫血孕妇为 SEA 杂合缺失,CS 单体型,即 -^{SEA}/ α ^{CS}, β -珠蛋白生成障碍性贫血为 -28(A→G) 突变。对于这种复合型珠蛋白生成障碍性贫血患者,无论同 α -珠蛋白生成障碍性贫血或 β -珠蛋白生成障碍性贫血患者进行婚配,均有可能生育出中间型或重型患儿。 α -珠蛋白基因的缺失程度与 α -珠蛋白生成障碍性贫血的严重程度相关。当 4 个 α -珠蛋白基因缺失或缺陷,可导致完全无 α 链生成,此类胎儿仅有 γ 4(HbBart's),可缺氧致死,大多在妊娠 30~40 周时成为死胎而流产或早产后数小时内死亡;3 个 α -珠蛋白基因缺失或缺陷,患者仅能合成少量 α 链,容易在红细胞内变形沉淀而形成包涵体,造成红细胞膜僵硬而使红细胞寿命缩短,导致 HbH 病;2 个 α -珠蛋白基因缺失或缺陷时,有相当数量的 α 链合成,携带者生理改变轻微;静止型 α -珠蛋白生成障碍性贫血仅有 1 个 α 基因缺失或缺陷, α 链合成略微减少,患者生理改变非常轻微^[11-13]。所以在婚前体检时,为了避免下一代出现基因缺陷疾病,应该进行珠蛋白生成障碍性贫血检查。

珠蛋白生成障碍性贫血作为我国南方常见的遗传性血液疾病之一,一直以来北方地区报道较少,但随着人口的迁移及南北通婚的增多,北方地区患病的人数也有所增加。本研究的病例基因型为非缺失型 HbH 病复合 β -珠蛋白生成障碍性贫血,该种复合基因型在南方地区如广西、广东等有发现,但在北方地区少有报道^[14-15]。因此,在临床工作中要重视 $\alpha\beta$ 复合型珠蛋白生成障碍性贫血的存在,尤其要在北方地区开展珠蛋白生成障碍性贫血的实验室诊断,这对于预防重型珠蛋白生成障碍性贫血患儿的出生具有重要的指导意义。

参考文献

[1] 马骞,陈义兵,赵振华,等. 中原地区珠蛋白生成障碍性贫血的产前诊断及临床分析[J]. 中华妇产科杂志,2017,52(5):339-341.
[2] 李强,李莉艳,莫秋华,等. 由 HbH 病和重型 β 珠蛋白生成障碍性贫血引起的一个罕见中间型珠蛋白生成障碍性贫血病例及其产前诊断应用[J]. 南方医科大学学报,2008,28(1):16-19.

[3] VICHINSKY E. Complexity of alpha thalassemia: growing health problem with new approaches to screening, diagnosis, and therapy[J]. Ann N Y Acad Sci, 2010, 1202(1):180-187.

[4] HE S, QIN Q, YI S, et al. Prevalence and genetic analysis of α - and β -thalassemia in Baise region, a multi-ethnic region in southern China[J]. Gene, 2017, 619:71-75.

[5] CHEN F E, OOI C, HA S Y, et al. Genetic and clinical features of hemoglobin H disease in Chinese patients[J]. N Engl J Med, 2000, 343(8):544-550.

[6] CHUI D H, FUCHAROEN S, CHAN V. Hemoglobin H disease; not necessarily a benign disorder[J]. Blood, 2003, 101(3):791-800.

[7] 姜柯安, 刘东云, 陈霞, 等. 49 例同型珠蛋白生成障碍性贫血携带者产前基因诊断分析[J]. 重庆医学, 2017, 46(10):1360-1362.

[8] 徐葵, 曾瑞萍. 对 142 例 β 珠蛋白生成障碍性贫血基因携带者进行缺失型 α 珠蛋白生成障碍性贫血 1 基因分析[J]. 中华血液学杂志, 1999, 20(4):206-207.

[9] SABATH D. Molecular diagnosis of thalassemias and hemoglobinopathies: an ACLPS critical review[J]. Am J

Clin Pathol, 2017, 148(1):6-15.

[10] 玉晋武, 韦媛, 林彩娟, 等. HbH 病复合 β -珠蛋白生成障碍性贫血患者血液学与基因型分析[J]. 中国妇幼保健, 2015, 30(31):5424-5426.

[11] 徐湘民. 珠蛋白生成障碍性贫血预防控制操作指南[M]. 北京:人民军医出版社, 2011:153-158.

[12] LIN P C, CHANG T T, LIAO Y M, et al. Clinical features and genotypes of patients with hemoglobin H disease in Taiwan[J]. Lab Med, 2019, 50(2):168-173.

[13] ORIGA R, BARELLA S, PAGLIETTI M E, et al. Hematological phenotypes in children according to the α -globin genotypes[J]. Blood Cells Mol Dis, 2018, 69:102-106.

[14] 周玉球, 肖奇志, 黄丽娟, 等. HbH 病患儿临床表现与基因型相关性的研究[J]. 中华儿科杂志, 2004, 42(9):693-696.

[15] XIE X M, ZHOU J Y, LI J, et al. Implementation of newborn screening for hemoglobin h disease in mainland China[J]. Indian J Hematol Blood Transfus, 2015, 31(2):242-246.

(收稿日期:2020-10-03 修回日期:2021-05-11)

(上接第 1658 页)

试成绩可以看出, 见习生的能力评定等级相较见习前的人科摸底考试明显提高, 提示 OPO 模式的教学效果好, 能明显提高见习生的知识掌握水平。

近年来, 医学教育工作者紧跟医疗形势, 开展了多种类型的教学尝试, 其中基础与临床融合式教学被广泛认可^[9]。系统化、多元化、规范化的实践教学改革能够改变陈旧的教学模式, 活化书本上的教学内容, 提高见习生综合素质, 提高临床实践带教质量, 让见习生能够学以致用, 为今后的检验工作打下坚实的基础^[10]。本研究所采用的 OPO 模式具有较好的教学效果, 能明显提高见习生的知识掌握水平, 见习生满意度高, 是一种能被见习生广泛接受, 可推广使用的教学模式。

参考文献

[1] 曾婷婷, 郑沁, 金咏梅, 等. 构建多元化教学模式提升医学检验学生综合素质[J]. 检验医学与临床, 2015, 12(15):2291-2292.

[2] 陈丽华, 陈辉, 宋明胜, 等. 医学检验技术专业应用型创新人才培养模式的探索与实践[J]. 中国高等医学教育, 2017, 31(4):24-25.

[3] 韩艳. 古丽加娜提·塞塔尔, 孙锦艳. “分段式教学”质量监控体系的建立与评价[J]. 西部中医药, 2016, 29(10):76-77.

[4] 汪玥, 顾兵. 小世界, 大学问——微生物检验菜鸟成长记[J]. 临床与病理杂志, 2016, 36(11):1702-1704.

[5] 王瑛, 沈建雄, 王海英, 等. 实验诊断见习引入医学生临床实习的教学改革探析[J]. 中国中医药现代远程教育, 2019, 17(22):151-153.

[6] 杨永丽, 施建明, 权日, 等. 临床见习满意度问卷的研制及信效度检验[J]. 中国高等医学教育, 2015, 29(1):5-6.

[7] 李彦, 鄢仁晴, 肖代敏. 临床分子生物学检验技术实验教学改革探讨[J]. 卫生职业教育, 2018, 36(19):100-102.

[8] 朱江贤, 吴惠玲, 杨美兰, 等. 检验医学专业实习生临床检验基础教学体会[J]. 实用医技杂志, 2016, 23(12):1357-1359.

[9] 张亚婷, 徐宏贵, 韩黠蔚, 等. 基础与临床融合式教学在儿科见习教学中的应用[J]. 基础医学教育, 2020, 22(5):344-347.

[10] 邵咏, 袁磊. 临床基础检验学实习带教存在的问题及对策[J]. 佳木斯职业学院学报, 2020, 36(4):71-72.

(收稿日期:2020-11-08 修回日期:2021-05-26)