

Helena SAS-3 全自动琼脂糖电泳仪在血红蛋白分析中的应用及评价

莫建坤,张智,黎永新,雷达,马洁(广东省第二人民医院检验科,广东 广州 510310)

摘要:目的 探讨 Helena SAS-3 型全自动琼脂糖凝胶电泳分析系统在地中海贫血诊断中的临床应用。方法 采用琼脂糖凝胶电泳检测 200 份标本中的血红蛋白 A 和 A2 含量。选择两份血红蛋白液进行批内、批间精密度试验。结果 200 例标本中,170 例健康体检者、12 例急性淋巴细胞白血病患者、12 例急性髓系细胞白血病患者、4 例非何杰金氏淋巴瘤患者血样血红蛋白 A、血红蛋白 A2 的平均值±标准差分别是(%) :97.55±0.51、2.44±0.51, 97.01±0.329、2.99±0.32,97.42±0.57、2.84±0.28, 97.44±0.55、2.55±0.55。2 例 β-地中海贫血患者血红蛋白电泳血红蛋白 F 均高于正常成人水平;血红蛋白 A、A2 批内、批间精密度试验 CV%结果分别是:0.17、7.76、0.16、7.14。结论 Helena 公司 SAS-3 型全自动琼脂糖凝胶电泳分析系统够清晰分辨血红蛋白 A2 和血红蛋白 F 增高者,为临床诊断地中海贫血及异常血红蛋白病提供准确的实验室方法和依据。

关键词: 血红蛋白;琼脂糖凝胶电泳;地中海贫血

中图分类号:R446 文献标识码:A 文章编号:1000-2588(2005)12-1565-03

Application of Helena SAS-3 full automatic hemoglobin agarose electrophoresis

MO Jian-kun, ZHANG Zhi, LI Yong-xin, LEI Da, MA Jie

Clinical Laboratory, Second People's Hospital of Guangdong Province, Guangzhou 510310, China

Abstract: Objective To assess the value of Helena SAS-3 full automatic hemoglobin agarose electrophoresis in the diagnosis of thalassemia. **Methods** Hemoglobin A and A2 was detected by agarose electrophoresis in 200 blood samples collected from 170 healthy subjects, 2 patients with beta-thalassemia, 12 with acute lymphoblastic leukemia, 12 acute myelocytic leukemia and with 4 non-Hodgkin lymphoma. **Results** The Mean±SD of hemoglobin A in the healthy subjects and patients with beta-thalassemia, acute lymphoblastic leukemia, acute myelocytic leukemia and non-Hodgkin lymphoma was 97.55±0.51, 97.01±0.329, 97.42±0.57, 97.44±0.55, and that of A2 was 2.44±0.51, 2.99±0.32, 2.84±0.28, 2.55±0.55, respectively. The values of electrophoresed hemoglobin F of the 2 patients with beta-thalassemia were higher than those of the normal adults. The within-run coefficient of variation (CV) and between-run CV was 0.17 and 7.76 for hemoglobin A, and 0.16 and 7.14 for hemoglobin A2, respectively. **Conclusions** Helena SAS-3 full automatic agarose electrophoresis system possesses strong resolving power in detecting trace abnormal hemoglobin and accurately identifies unusual evaluation of hemoglobin A2 and F to facilitate the diagnosis of thalassemia.

Key words: hemoglobin; agarose electrophoresis; thalassemia

血红蛋白电泳分析和研究异常血红蛋白是实验室检查地中海贫血的常用方法。β-地中海贫血的一个重要特征是血红蛋白 A2 或血红蛋白 F 增高。醋酸纤维素薄膜血红蛋白电泳可定量分析血红蛋白 A2,但对血红蛋白 F 分辨力有一定的限制,在进行血红蛋白分析时往往需要同时进行血红蛋白 F 碱变性试验来检测血红蛋白 F 含量,以提供诊断 β-地中海贫血的指标^[1]。最近我们引进美国 Helena 公司 SAS-3 最新型全自动琼脂糖凝胶电泳分析仪,对收集的标本

进行血红蛋白电泳分析,报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 研究对象 本院住院病人、门诊健康体检者 200 例。其中经过实验室血液常规、肝肾肾功能血清学检测,B 超和临床检查均未见异常结果者 170 例为健康人组(男性 90 例、女性 80 例,年龄 18~60 岁);病人组:β-地中海贫血患者 2 例(男女性各 1 例,年龄均为 3 岁)、急性淋巴细胞白血病患者 12 例(男性 5 例、女性 7 例,年龄 3~65 岁)、急性髓系细胞白血病患者 12 例(男性 6 例、女性 6 例,年龄 20~45 岁)、非何杰金氏淋巴瘤患者 4 例(男性 2 例、女性 2 例,年龄 30~47 岁)。

1.1.2 Helena 全自动琼脂糖凝胶电泳分析系统 包括 HelenaSAS-3 型全自动琼脂糖凝胶电泳分析仪,Hele-

收稿日期:2005-10-20

基金项目:广东省自然科学基金(04005052)

Supported by Natural Science Foundation of Guangdong Province (04005052)

作者简介:莫建坤(1962-),男,2001年毕业于第三军医大学,本科,副主任技师,电话:020-89168132,E-mail:mojiankun@21cn.com

naSAS-4型全自动琼脂糖凝胶电泳固定、染色、脱色、风干后处理系统和 EPSON PERFECTION PHOTO 4870型全自动吸光度扫描仪,按仪器操作说明书(电泳温度 20℃、时间 25 min、电压数 500 V、电流 24 mA)使用。

1.1.3 血红蛋白琼脂糖凝胶电泳试剂 由美国 Helena 公司配套提供,试剂 REP Alkaline 血红蛋白-8 琼脂凝胶板(批号:002169),染料批号:001344。按试剂操作说明使用。

1.1.4 离心机 为 BACEMAN COULTER 公司 SPINCHRON DLX Centrifuge 型离心机,离心速度 3000 r/min(相对离心力为 3250 \times g)。

1.2 方法

1.2.1 标本的采集及处理 标本的采集:用一次性真空采血管(含 EDTA K2 抗凝剂)采集上述人群空腹静脉血 1 ml 摇匀抗凝。血红蛋白液的制备:按中华人民共和国卫生部医政司《全国临床检验操作规程》中介绍的常规法制备血红蛋白液^[2]。

1.3 批内、批间精密度实验 批内精密度试验

取一份样本(已制好备用的血红蛋白液)在同一块琼脂凝胶板重复点样 20 次进行血红蛋白电泳,计算血红蛋白 A、血红蛋白 A2 的平均值、标准差、变异系数。批间精密度试验:另外取一份样本(已制好备用的血红蛋白液)每天检测血红蛋白,连续 6 d,计算血红蛋白 A、血红蛋白 A2 的平均值、标准差、变异系数。

1.4 实验室参考值

将所收集的 170 例健康成人标本进行血红蛋白电泳分析,根据文献[3]方法,观察所测定的数值是否属于正态分布,最后确定实验室参考值范围。

1.5 统计学处理方法

对测定得出的实验数据进行正态分布性检验、批内精密度实验、实验室参考值的建立及标本均数的比较,均为使用 SPSS 10.0 统计学软件进行分析处理^[4]。

2 结果

2.1 批内批间精密度实验结果

全自动琼脂糖凝胶电泳分析系统测定批内血红蛋白 A、血红蛋白 A2 精密度实验结果(平均值 \pm 标准差)(%)、变异系数分别是:97.80 \pm 0.17、0.17%,2.19 \pm 0.17、7.76%。批间血红蛋白 A、血红蛋白 A2 精密度实验结果(平均值 \pm 标准差)(%)、变异系数分别是:97.76 \pm 0.16、0.16%和 2.24 \pm 0.16、7.14%。

2.2 实验室参考值的建立

170 例健康人血红蛋白 A、A2 实验结果数据进行正态分布性检验“Kolmogorov-Smirnov Z”值均为:

1.096、P 值均是:0.181,实验数据为正态分布;血红蛋白 A、血红蛋白 A2 平均值 \pm 标准差(%)分别为:97.55 \pm 0.51、2.44 \pm 0.51。本实验室成人男女参考值范围:血红蛋白 A2>4.0% 或发现有异常血红蛋白带为截断值,与文献报告相近似^[5]。

2.3 血红蛋白电泳的临床应用

2.3.1 血红蛋白电泳在 β 地中海贫血的临床应用 两例 β 地中海贫血患者琼脂糖凝胶电泳中血红蛋白 A2 区带清晰集中,在血红蛋白 A 后面出现明显的血红蛋白 F 带:例 1 β 地中海贫血患者血红蛋白 A、血红蛋白 F、血红蛋白 A2 电泳结果(%)分别是 82.75、15.06、2.19;例 2 β 地中海贫血患者血红蛋白 A、血红蛋白 F、血红蛋白 A2 电泳结果(%)分别是 53.77、42.5、3.73。

2.3.2 血红蛋白电泳在其他白血病的临床应用 12 例急性淋巴细胞白血病患者、12 例急性髓系细胞白血病患者、4 例非何杰金氏淋巴瘤患者血红蛋白 A 和血红蛋白 A2 电泳结果平均值 \pm 标准差(%)分别是 97.01 \pm 0.329、2.99 \pm 0.32,97.42 \pm 0.57、2.84 \pm 0.28,97.44 \pm 0.55、2.55 \pm 0.55,未见血红蛋白 A2 结果增高、未发现血红蛋白 F 带及其他异常血红蛋白区带。

3 讨论

血红蛋白的主要生理功能是将氧气从肺部运送到组织,同时将组织释放的二氧化碳带回到肺部完成氧气和二氧化碳的交换。足月的初生婴儿血液中约 70%~80%的血红蛋白为血红蛋白 F,同时也存在少量的血红蛋白 A 和血红蛋白 A2。不久血红蛋白 F 浓度迅速下降,同时血红蛋白 A 相应增加,绝大多数于出生后 6 个月至 2 年后,血红蛋白 F 降至成人的正常水平。

地中海贫血是一种因珠蛋白合成障碍所致的遗传性溶血性疾病,是我国南方最常见和危害最大的遗传病之一^[6,7]。 α -地中海贫血是由于珠蛋白基因缺失或突变,导致 α -珠蛋白肽链合成障碍所致,我国多数患者为 α -珠蛋白基因缺失。 β -地中海贫血由于 β -链合成的减少造成血红蛋白 A2 (α 2 δ 2) 增高,血红蛋白 F (α 2 γ 2) 有时增高。分离和鉴定患者血液中血红蛋白的类型及含量对于贫血类型的临床诊断及治疗具有重大意义。临床实验室常用的分离和鉴定血红蛋白的方法有醋酸纤维素薄膜电泳、琼脂糖凝胶电泳、柱层析和一些有关的化学试验,现多用分辨率更高的琼脂糖凝胶进行电泳分析。琼脂糖凝胶电泳血红蛋白 A2 区带清晰、扫描定量准确、对血红蛋白 F 分辨力大为提高。本文收集的两例 β -地中海贫血患者血样,经 Helena SAS 全自动琼脂糖凝胶电泳分析仪电泳分析

后得到的结果是血红蛋白 F 明显增高,具有 β -地中海贫血血红蛋白电泳结果特征^[8]。

普通的全自动电泳仪将电泳和固定、染色、脱色等步骤集中在一台机器,离不开高电压、高温、强酸、强碱等条件,这些不可避免或多或少地对分析仪器有一定影响。Helena 全自动琼脂糖凝胶电泳分析系统的设计则是将电泳与固定、染色、脱色、烘干分开,分别设计成独立的系统: HelenaSAS-3 型全自动琼脂糖凝胶电泳分析仪, HelenaSAS-4 型全自动琼脂糖凝胶电泳固定、染色、脱色、风干后处理系统和 EPSON PERFECTION PHOTO 4870 型全自动吸光度扫描仪,全自动琼脂糖凝胶血红蛋白电泳分析系统这样的设计对仪器的使用寿命、维护保养更为有利,且具有操作简单、电泳各区带分辨率高、电泳结果重复性高等特点。

参考文献:

- [1] 赵华,曾付兰,林江.全自动血红蛋白琼脂糖凝胶电泳在 β 地中海贫血的临床应用[J].泸州医学院学报,2004,27(3): 231-2.
[2] 叶应妩,王毓三.全国临床检验操作规程[M].第2版,南京:东南

大学出版社,1997.58-63.

- [3] 马斌荣.SPSS for Windows Ver.11.5 在医学统计中的应用[M].第3版,北京:科学出版社,2004.57-63.
[4] 莫建坤.SPSS10.0 for Windows 在医学检验领域中的应用[J].国际医药卫生导报,2004,10(1): 60-1.
[5] 何雅军,杨小华,马福广,等.红细胞平均体积和脆性及血红蛋白电泳联合检测在地中海贫血诊断中的价值[J].中华检验医学杂志,2005,28(3): 244-6.
He YJ, Yang XH, Ma FG, *et al.* The value of the combined tests of mean corpuscular volume, red cell osmotic fragility test and hemoglobin electrophoresis for diagnosis of thalassemia [J]. Chin J Lab Med, 2005, 28(3): 244-6.
[6] 谭金荣,李文军,马建英,等.四会市 α 和 β 地中海贫血的分子流行病学调查[J].第一军医大学学报,2003,23(7): 716-7.
Tan JR, Li WJ, Ma JY, *et al.* Molecular epidemiological study of α - and β -thalassemia in Sihui city [J]. J First Mil Med Univ/Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao, 2003, 23(7): 716-7.
[7] 蔡稔,梁昕,潘莉珍,等.血液学指标在育龄人群地贫筛查中的诊断价值[J].中国优生与遗传杂志,2003,11(1): 129-32.
Cai R, Liang X, Pan LZ, *et al.* The diagnostic value of the blood indexes in the people for screening thalassemia in the child-bearing age [J]. Chin J Birth Health Heredity, 2003, 11(1): 129-32.
[8] 沈波,潘晓.80例贫血患者血红蛋白电泳分析[J].中国实验诊断学,2004,8(5): 498-50.

(上接 1564 页)

阻滞效果。用反映阻滞特征的六项指标进行对比、观察和研究,结果显示:①从阻滞的效果来看,除 LB 组运动阻滞的时效时间较 B 组短外,其他五项指标两组均无显著性差异,与国外资料相似^[3,4],LB 组运动阻滞的时效时间较 B 组短,与 Glaser 等^[3]的结果不一致,可能是由于彼此的实验方法不完全一样所致。②从阻滞的达标率来看,LB 组与 B 组相近。③两组的阻滞前后的血压、心率及心电图均无异常改变。说明小剂量 LB 与 B 一样,因单侧腰麻时阻滞范围均较小,对循环系统的干扰也较轻微。④小剂量轻比重单侧腰麻,两组的单侧阻滞效果及单侧阻滞率相同,两组最高阻滞平面无显著性差异,并均无神经系统并发症。从作者等初步的临床观察和研究发现:国产 LB 腰麻的阻滞特征和 B 相似,在本研究条件下 LB 轻比重单侧腰麻安全有效,轻比重单侧阻滞时 LB 和 B 之间应可以任选。

参考文献:

- [1] Casati A, Moizo E, Marchetti C, *et al.* A prospective, randomized,

double-blind comparison of unilateral spinal anesthesia with hyperbaric bupivacaine, ropivacaine, or levobupivacaine for inguinal herniorrhaphy [J]. Anesth Analg, 2004, 99(5): 1387-92.

- [2] Sell A, Olkkola KT, Jalonen J, *et al.* Minimum effective local anesthetic dose of isobaric levobupivacaine and ropivacaine administered via a spinal catheter for hip replacement surgery [J]. Br J Anaesth, 2005, 94(2): 239-42.
[3] Glaser C, Marhofer P, Zimpfer G, *et al.* Levobupivacaine versus racemic bupivacaine for spinal anesthesia [J]. Anesth Analg, 2002, 94(1): 194-8.
[4] Alley EA, Kopacz DJ, McDonald SB, *et al.* Hyperbaric spinal levobupivacaine: a comparison to racemic bupivacaine in volunteers [J]. Anesth, Analg, 2002, 94(1): 188-93.
[5] Groen K, Mantel M, Zeijlmans PW, *et al.* Pharmacokinetics of the enantiomers of bupivacaine and mepivacaine after epidural administration of the racemates [J]. Anesth Analg, 1998, 86: 361-6.
[6] Huang YF, Pryor ME, Mather LE, *et al.* Cardiovascular and central nervous system effects of intravenous levobupivacaine and bupivacaine in sheep [J]. Anesth Analg, 1998, 86: 797-804.
[7] Bardsley H, Gristwood R, Baker H, *et al.* A comparison of the cardiovascular effects of levobupivacaine and rac-bupivacaine following intravenous administration to healthy volunteers [J]. Br J Clin Pharmacol, 1998, 46: 245-9.