

# 免疫比浊法检测肌红蛋白的性能验证及临床应用评估<sup>\*</sup>

刘行超, 曾桂芬, 农 妍, 谭秋培, 胡松林, 罗厚龙<sup>△</sup> (中国人民解放军第一八一医院检验科, 广西桂林 541002)

**【摘要】 目的** 对免疫比浊法检测肌红蛋白(Mb)的检测性能进行评价, 并对 Mb 的临床应用进行评估。**方法** 检测 150 例健康人(健康对照组)血清 Mb 水平, 建立参考值范围, 评估免疫比浊法检测 Mb 的准确度、精密度、线性。对 80 例急性冠脉综合征(ACS)患者按心电图结果分组后, 比较 ACS 组血清 Mb 浓度与健康对照组是否存在差异。对于存在差异的 ACS 患者, 进一步收集疾病对照组, 通过绘制 ROC 曲线, 评价 Mb 与其他心肌标志物的诊断性能。**结果** 健康人血清 Mb 参考范围为  $<70.22 \text{ mg/L}$ (男)、 $<52.22 \text{ mg/L}$ (女), 差异有统计学意义( $t=4.39$ ,  $P<0.05$ )。2 个水平质控检测结果为  $100.31$ 、 $295.50 \text{ mg/L}$ , 均在厂商允许偏差范围内, 批内、批间变异系数(CV)均在 5% 以内,  $0\sim800 \text{ mg/L}$  范围内线性良好。ACS 组、非 ACS 组、健康对照组的 Mb 水平分别为  $(285.28 \pm 314.63)$ 、 $(76.24 \pm 40.77)$ 、 $(44.96 \pm 12.62) \text{ mg/L}$ , 差异有统计学意义( $P<0.05$ )。Mb 在 ACS 组中的 ROC 曲线下面积(AUC)为 0.878。在 ACS 组中, Mb 的诊断敏感度为 80.0%, 优于肌钙蛋白 I(cTnI)的 43.7% 和肌酸激酶同工酶(CK-MB)的 57.5%。**结论** 免疫比浊法检测 Mb 的检测性能符合要求。

**【关键词】** 肌红蛋白; 肌钙蛋白 I; 临床性能验证; 心肌标志物

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2015.07.003 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2015)07-0883-02

**Evaluation of serum myoglobin detection kit using immune turbidimetry and investigate the clinical diagnosis value of myoglobin<sup>\*</sup>** LIU Xing-chao, ZENG Gui-fen, NONG Yan, TAN Qiu-pei, HU Song-lin, LUO Hou-long<sup>△</sup> (Department of Clinical Laboratory, the 181st Hospital of PLA, Guilin, Guangxi 541002, China)

**【Abstract】 Objective** To evaluate the performance of serum myoglobin detection kit using immune turbidimetry and investigate the clinical diagnosis value of myoglobin. **Methods** 150 healthy adults were enrolled in this case control study to establish serum myoglobin (Mb) reference value. The analytical performance (accuracy, precision, linearity) of serum Mb detection kit using immune turbidimetry was assessed. Eighty patients were classified into different acute coronary syndrome groups according to their electrocardiographic examination. Serum Mb level of ACS group was compared with that of normal control group. In ACS group with statistical difference, benign disease groups were further collected. Receiver operating characteristic (ROC) curve and area under curve (AUC) were used to evaluate the diagnostic value of Mb compared with other cardiac markers. **Results** The reference interval of Mb was  $<70.22 \text{ mg/L}$  (males) and  $<52.22 \text{ mg/L}$  (females) respectively, which had statistically significant difference ( $t=4.39$ ,  $P<0.05$ ). The detection result of 2 level controls was  $100.31$  and  $295.50 \text{ mg/L}$  respectively, which were both within the acceptable limits. The within-lot and between-lot variations of four level samples were both below 5%. There was a good linear correlation between theoretical value and actual detection result in range of  $0\sim800 \text{ mg/L}$ . The serum level of Mb was  $(285.28 \pm 314.63)$ ,  $(76.24 \pm 40.77)$  and  $(44.96 \pm 12.62) \text{ mg/L}$  in ACS group, non-ACS group and normal control group respectively, which had statistically significant difference ( $P<0.05$ ). The AUC of Mb was 0.878 in ACS group. In ACS group, the sensitivity of Mb was higher than that of cTnI and CK-MB (80.0%, 43.7% and 57.5%). **Conclusion** Experimental results show that serum myoglobin detection kit using immune turbidimetry has good performance in the precision and linearity.

**【Key words】** myoglobin; cardiac troponin I; clinical performance verification; cardiac markers

急性冠脉综合征(ACS)是以冠状动脉粥样硬化斑块破裂或糜烂, 继发完全或不完全闭塞性血栓形成病理基础的一组临床综合征<sup>[1]</sup>。ACS 是严重危害人体健康的疾病, 其发病率和病死率增长迅速, 由此越来越受到医学界的重视<sup>[2-3]</sup>。肌红蛋白(Mb)是一种低分子的含血红素的蛋白质, 广泛存在于心肌和骨骼肌中, 是急性心肌梗死后最早检出的标志物之一<sup>[4-5]</sup>。血清 Mb 的检测能辅助诊断急性心肌梗死, 推测心梗面积和判断溶栓治疗成功与否, 辅助诊断心肌再梗死<sup>[6]</sup>。目前 Mb 的

检测方法有胶体金法、放射免疫方法、酶联免疫吸附试验(ELISA)、化学发光和酶联荧光分析法<sup>[7]</sup>。本研究旨在对免疫比浊法检测 Mb 的检测性能进行评价, 并对 Mb 的临床应用进行评估。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** ACS 组: 收集 2014 年 1~7 月本院确诊 ACS 患者 80 例, 其中男 58 例, 女 22 例, 年龄 19~92 岁。非 ACS 组: 为同期本院住院除 ACS 外其他冠状动脉病变患者 50 例;

<sup>\*</sup> 基金项目: 国家高技术研究发展计划(863 计划)资助项目(2011AA02A111)。

作者简介: 刘行超, 男, 副主任技师, 硕士, 主要从事临床生化及微生物耐药性研究。 <sup>△</sup> 通讯作者, E-mail: luohoulong297@126.com。

要求临床已明确排除 ACS 可能,且年龄、性别分布与 ACS 组相仿。健康对照组:为同期本院健康管理中心健康查体者,其中男 100 例,女 50 例,年龄 23~70 岁,年龄、性别与 ACS 组相匹配。所有对象均排除脑血管病、肝肾疾病、周围血管病、痛风、糖尿病,且无急、慢性感染,手术,创伤及恶性肿瘤病史。

**1.2 标本采集** 使用生化专用真空采血管,采集所有研究对象静脉血 4~5 mL,置室温自然凝集,4 000 r/min 离心 10 min 后立即检测。批间试验使用的混合标本-20℃保存,解冻后放置于 2~8℃冰箱中,并在 24 h 内用于分析检测。

**1.3 仪器与试剂** 血清 Mb、肌钙蛋白 I(cTnI)和肌酸激酶同工酶(CK-MB)检测采用日本 Hitachi7180 生化分析仪及北京九强公司 Mb 检测试剂盒、cTnI 检测试剂盒和 CK-MB 型检测试剂盒。

#### 1.4 检测性能评价

**1.4.1 参考范围建立** 统计 150 例健康人血清 Mb 检测结果。应用 SPSS17.0 软件对数据进行正态性检测,采用正态分布法的单侧 95%参考值范围,即<1.64s 建立参考范围。

**1.4.2 准确度与重复性验证** 准确度验证采用厂商配套质控(2 个水平);重复性验证采用 4 个水平的混合标本(S1、S2、S3、S4)分别重复检测 20 次,计算批内均值与变异系数(CV);将 4 个水平的混合标本分别每日检测 2 个批次,每批次各检测 2 次,连续检测 20 d,计算批间均值与 CV。

**1.4.3 线性范围验证** 使用浓度为 800 mg/L 的高值标本,按 1:5、2:5、3:5、4:5 及原倍顺序手工稀释成 160、320、480、640、800 mg/L 的系列浓度,按浓度由低至高检测 2 次,计算平均值。并以实测均值为 Y,理论值为 X,使用 SPSS17.0 统计软件拟合一次( $Y=aX+b$ )、二次( $Y=aX^2+bX+c$ )、三次( $Y=aX^3+bX^2+cX+d$ )多项式方程,评价是否呈线性。

**1.5 临床性能评价** 比较 ACS 组 Mb 水平与健康对照组之间的差异。如存在差异则收集相应的疾病对照组即非 ACS 组 50 例,并将 Mb 与临床常用的心肌标志物 CK-MB、cTnI 进行比较。将非 ACS 组与健康对照组合并作为 ACS 阴性组,绘制 ROC 曲线,比较 Mb 和相应特异性标志物的曲线下面积(AUC),同时通过自建参考范围上限作为切点(其他心肌标志物切点:CK-MB 为 24 U/L,cTnI 为 1.68 μg/L),比较 Mb 及其他标志物在 ACS 中的敏感度和特异度。评价 Mb 在 ACS 中的诊断价值。

**1.6 统计学处理** 采用 SPSS17.0 进行统计学分析。各组患者血清 Mb 浓度如呈正态分布则采用  $\bar{x} \pm s$  表示,与健康对照组的比较使用独立样本 *t* 检验;如呈非正态分布则采用中位数(四分位数)表示,与健康对照组的比较使用 Mann-Whitney *U* 检验,ACS 组、非 ACS 组、健康对照组间的比较采用 ANOVA 方差分析(方差齐时使用 SNK 检验,方差不齐时使用 Tamhane 检验)。各项标志物在 ACS 患者中的诊断价值分析采用 ROC 曲线。 $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

#### 2.1 检测性能评价

**2.1.1 参考范围建立** 150 例健康人血清 Mb 水平为(44.96±12.62)mg/L,按性别分组后,男性为(47.52±13.84)mg/L,女性为(39.84±7.55)mg/L,差异有统计学意义( $t=4.39, P<0.05$ )。按<1.64s 分别建立男性、女性的参考范围,分别为<70.22 mg/L、<52.22 mg/L。

**2.1.2 准确度与精密度验证** 2 个水平质控检测结果分别为 100.31、295.50 mg/L,均在厂商允许偏差范围内[水平 1 为

(100.0±15.0)mg/L;水平 2 为(299.0±30.0)mg/L]。4 个水平标本(S1、S2、S3、S4)Mb 的批内 CV 分别为 1.35%、0.86%、0.97%、0.96%,批间 CV 分别为 4.46%、3.65%、3.98%、4.26%,证明该试剂检测 Mb 的精密度良好。

**2.1.3 线性范围验证** 一次多项式拟合方程  $Y=1.011X-4.9, r^2=0.999$ 。二次多项式系数 a 的 *P* 值为 0.365( $P>0.05$ );三次多项式系数 a 的 *P* 值为 0.562( $P>0.05$ ),b 的 *P* 值为 0.596( $P>0.05$ )。说明曲线在 0~800 mg/L 范围内呈线性。

#### 2.2 临床性能验证

**2.2.1 各组血清 Mb 水平比较** ACS 组、非 ACS 组、健康对照组血清 Mb 水平分别为(285.28±314.63)、(76.24±40.77)、(44.96±12.62)mg/L,ACS 组 Mb 水平明显高于非 ACS 组和健康对照组,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。

**2.2.2 Mb 在 ACS 中的诊断性能** 将非 ACS 组与健康对照组合并作为阴性对照组,分别绘制 Mb、cTnI、CK-MB 的 ROC 曲线。对不同标志物的 ROC 曲线 AUC 进行比较,Mb 的 AUC 为 0.878,高于 cTnI 的 0.749( $P<0.05$ ),与 CK-MB (0.821)基本相同( $P>0.05$ )。Mb 在诊断切点(自建参考范围上限男 70.22 mg/L、女 52.22 mg/L)的敏感度为 80.0%,高于 cTnI 的 43.7%及 CK-MB 的 57.5%,特异度为 81.5%,低于 cTnI 的 97.5%和 CK-MB 的 97.0%。在 ACS 组中选取 cTnI 检测结果正常的患者,绘制 Mb 在上述患者中的 ROC 曲线,结果在 cTnI 正常的 ACS 患者中,Mb 的 AUC 为 0.619,进一步说明 Mb 可作为 cTnI 的补充指标用于 ACS 的早期诊断。

## 3 讨论

Mb 是一种新的心肌损伤的生化标志物,在急性心肌梗死时它可以迅速从心肌细胞释放到血液中,使血液中的 Mb 浓度迅速升高,12 h 内达到高峰,24 h 后由肾脏清除。有研究表明,在胸痛发作的 0.5~2.0 h 血浆中的 Mb 开始升高,并可持续 5~12 h。因此它是一个反映心肌损伤的早期诊断指标,并且这个指标的阴性结果特别有助于排除心肌梗死,其阴性预测值可达 100%<sup>[8-9]</sup>。

本研究对免疫比浊法检测 Mb 试剂盒的检测性能验证结果表明,其准确性、精密度、线性均符合检测要求。通过检测 150 例健康人血清 Mb 水平建立参考值范围:<70.22 mg/L(男)、<52.22 mg/L(女),女性低于男性。ACS 组血清 Mb 水平与非 ACS 组和健康对照组相比差异有统计学意义( $P<0.05$ ),提示 Mb 对 ACS 患者的早期诊断具有一定的参考价值。通过比较 ROC 曲线可以综合分析标志物的诊断价值,本研究中 Mb 的 AUC 为 0.878,优于 cTnI 与 CK-MB(AUC 分别为 0.749、0.821),且在 ACS 组中,Mb 在诊断切点时的诊断敏感度也优于 cTnI 与 CK-MB,但特异度略低于 cTnI 与 CK-MB。

为进一步比较 Mb 与 cTnI 在 ACS 诊断中的价值,对 cTnI 检测正常的 ACS 患者绘制 ROC 曲线,Mb 的 AUC 为 0.619,说明 Mb 在 ACS 患者发病早期血清 cTnI 水平还较低时已具有一定的诊断能力。所以 Mb 可以在 ACS 早期诊断中作为 cTnI 及 CK-MB 的补充,提高整体诊断性能。以往的研究表明 Mb 是一种非特异性的心肌损伤标志物,在多种疾病中均有升高<sup>[10-12]</sup>,这一点使得 Mb 在 ACS 中的应用受到限制。因此,应用 Mb 对 ACS 进行早期诊断时,应联合检测 cTnI 与 CK-MB,起到优势互补的作用,以达到更高的灵敏度与特异度,提高 ACS 的综合诊断性能,尽量减少漏诊和误诊。

(下转第 887 页)

- 193.
- [2] Congdon NG, Fredman DS, Lietman T. Important causes of visual impairment in the world today[J]. JAMA, 2003, 290(15):2057-2060.
- [3] Saaddine JB, Honeycutt AA, Narayan KM, et al. Projection of diabetic retinopathy and other major eye diseases among people with diabetes mellitus; United States, 2005-2050[J]. Arch Ophthalmol, 2008, 126(12):1740-1747.
- [4] Resnikoff S, Pascolini D, Etyaale D, et al. Global data on visual impairment in the year 2002[J]. Bull World Health Organ, 2004, 82(11):844-851.
- [5] Chung SS, Chung SK. Genetic analysis of aldose reductase in diabetic complications[J]. Curr Med Chem, 2003, 10(15):1375-1387.
- [6] Hohman TC, Nishimura C, Robison WG Jr. Aldose reductase and polyol in cultured pericytes of human retinal capillaries[J]. Exp Eye Res, 1989, 48(1):55-60.
- [7] Singh R, Barden A, Mori T, et al. Advanced glycation end-products; a review[J]. Diabetologia, 2001, 44(2):129-146.
- [8] Kaul K, Hodgkinson A, Tarr JM, et al. Is inflammation a common retinal-renal-nerve pathogenic link in diabetes[J]. Curr Diabetes Rev, 2010, 6(5):294-303.
- [9] MacKinnon JR, O'Brien C, Swa K, et al. Pulsatile ocular blood flow in untreated diabetic retinopathy[J]. Acta Ophthalmol Scand, 1997, 75(6):661-664.
- [10] Kowluru RA, Chan PS. Oxidative stress and diabetic retinopathy[J/OL]. Exp Diabetes Res, 2007-04-12[2014-11-12], <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1880867/>.
- [11] 苏晓明, 刘载钰, 邓平, 等. 糖尿病性视网膜病变与血清载脂蛋白 B 含量相关性的探讨[J]. 实用眼科杂志, 1988, 6(7):399-401.
- [12] Libby P, Aikawa M, Jain MK. Vascular endothelium and atherosclerosis[J]. Handb Exp Pharmacol, 2006, 176(2):285-306.
- [13] Cines DB, Pollak ES, Buck CA, et al. Endothelial cells in physiology and in the pathophysiology of vascular disorders[J]. Blood, 1998, 91(10):3527-3561.
- [14] Beckman JA, Creager MA, Libby P. Diabetes and atherosclerosis; epidemiology, pathophysiology, and management[J]. JAMA, 2002, 287(19):2570-2581.
- [15] 李桂英. 糖尿病患者血浆纤维蛋白原及 D-二聚体水平变化及意义[J]. 医学信息, 2010, 23(3):652-653.
- [16] 宁静, 郑剑波. 糖尿病视网膜病变患者血浆脂联素与血管内皮细胞损伤、血小板活化的关系[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2009, 23(8):762-764.
- [17] Nigro J, Osman N, Dart AM, et al. Insulin resistance and atherosclerosis[J]. Endocr Rev, 2006, 27(3):242-259.
- [18] Carr ME. Diabetes mellitus; a hypercoagulable state[J]. J Diabetes Complications, 2001, 15(1):44-54.
- [19] Rewers M, Zaccaro D, D'Agostino R, et al. Insulin sensitivity, insulinemia, and coronary artery disease; the insulin resistance atherosclerosis study[J]. Diabetes Care, 2004, 27(3):781-787.
- [20] Lim HS, Blann AD, Lip GY. Soluble CD40 ligand, soluble P-selectin, interleukin-6 and tissue factor in diabetes mellitus; relationships to cardiovascular disease and risk factor intervention[J]. Circulation, 2004, 109(21):2524-2528.
- [21] Estacio RO, Jeffers BW, Gifford N, et al. Effect of blood pressure control on diabetic microvascular complications in patients with hypertension and type 2 diabetes[J]. Diabetes Care, 2000, 23(2):54-64.

(收稿日期:2014-10-05 修回日期:2014-12-10)

(上接第 884 页)

## 参考文献

- [1] 任静, 姚朱华. 血浆 D-二聚体检测在急性冠脉综合征中的临床价值[J]. 临床检验杂志, 2013, 31(5):328-331.
- [2] 中华医学会心血管病学分会, 中华心血管病杂志编辑委员会. 中国心血管病预防指南[J]. 中华心血管病杂志, 2011, 39(1):3-22.
- [3] 朱永辉. 急性心肌梗死心肌损伤生化标志物检测进展[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(9):995-997.
- [4] Nigam PK. Biochemical markers of myocardial injury[J]. Indian J Clin Biochem, 2007, 22(1):10-17.
- [5] Kemp M, Donovan J, Higham H, et al. Biochemical markers of myocardial injury[J]. Br J Anaesth, 2004, 93(1):63-73.
- [6] 刘玉霞, 韩来新. 电化学发光法与免疫增强比浊法测定肌钙蛋白和肌红蛋白的比较分析[J]. 实验与检验医学, 2010, 28(3):241-242.
- [7] 宋丽芳, 邢喜龙. 胶乳增强免疫比浊法测定肌红蛋白[J]. 实用医技杂志, 2008, 15(32):4580-4581.
- [8] 宁学玲, 宁学洪, 郭晓华. 肌红蛋白检测心肌梗死型冠心病的研究[J]. 吉林医学, 2010, 31(25):4231-4233.
- [9] Ross R. Atherosclerosis; an inflammatory disease[J]. N Engl J Med, 1999, 340(2):115-126.
- [10] Ramasamy I. Biochemical markers in acute coronary syndrome[J]. Clinica Chimica Acta, 2011, 412(15):1279-1296.
- [11] Hasic S, Jadric R, Kiseljakovic E, et al. Comparison of creatine kinase activity and myoglobin blood level in acute myocardial infarction patients[J]. Bosn J Basic Med Sci, 2006, 6(1):19-23.
- [12] McCord J, Nowak RM, Hudson MP, et al. The prognostic significance of serial myoglobin, troponin I, and creatine kinase-MB measurements in patients evaluated in the emergency department for acute coronary syndrome[J]. Ann Emerg Med, 2003, 42(3):343-350.

(收稿日期:2014-10-20 修回日期:2015-01-05)