

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2020.05.006

荧光免疫微流定量检测急性心肌梗死三联的性能及诊断效果评价

陈桂芳, 楚华星, 邢 喆, 吴 蕾

北京大学首钢医院检验科, 北京 100144

摘要:目的 评价荧光免疫微流定量检测急性心肌梗死(AMI)三联(简称心梗三联)[肌红蛋白(Myoglobin)、肌酸激酶同工酶(CK-MB)和肌钙蛋白 I(cTnI)]的性能及在 AMI 中的诊断效果。方法 选择 2018 年 11 月至 2019 年 5 月该院诊治的疑似 AMI 患者 53 例为研究对象,其中经冠状动脉造影确诊的 AMI(AMI 组)33 例,冠心病等其他疾病(非 AMI 组)20 例。选取同期健康体检者 30 例为对照组。采用 esLabs hyper i300 全自动干式荧光免疫分析仪、微流控定量试剂盒(免疫荧光法)检测心梗三联,分析心梗三联对 AMI 的诊断性能及验证仪器精密度。结果 3 组 Myo、CK-MB 和 cTnI 水平比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。ROC 曲线分析结果显示,cTnI 诊断 AMI 的 AUC 值大于 Myo、CK-MB 及 Myo+CK-MB+cTnI 串联、并联($P < 0.05$)。Myo+CK-MB+cTnI 并联诊断 AMI 的灵敏度(97.0%)高于 Myo、CK-MB 及 Myo+CK-MB+cTnI 串联($P < 0.05$)。Myo+CK-MB+cTnI 串联诊断 AMI 的特异度(100.0%)高于 Myo、CK-MB 及 Myo+CK-MB+cTnI 并联($P < 0.05$)。荧光免疫微流定量检测 Myo、CK-MB、cTnI 的批间、批内精密度均不超过 10%,符合判定标准。结论 荧光免疫微流定量检测心梗三联性能良好,诊断效果佳,能基本满足 AMI 的辅助诊断应用,可用于临床实验室。

关键词: 荧光免疫; 微流控; 急性心肌梗死; 肌钙蛋白 I; 肌酸激酶同工酶; 肌红蛋白

中图分类号: R446.1

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2020)05-0596-04

Evaluation of the performance and diagnostic effect of fluorescence immunomicrofluidics in quantitative detection of 3 indicators of acute myocardial infarction

CHEN Guifang, CHU Huaxing, XING Zhe, WU Lei

Department of Clinical Laboratory, Peking University Shougang Hospital, Beijing 100144, China

Abstract: Objective To evaluate the performance of fluorescence immunomicrofluidics in quantitative detection of 3 indicators of acute myocardial infarction (AMI) [myoglobin (Myo), creatine kinase isoenzyme (CK-MB) and cardiac troponin I (cTnI)], and its diagnostic effect in AMI. **Methods** From November 2018 to May 2019, 53 patients suspected diagnosis of AMI in the hospital were selected as the study objects, including 33 patients with AMI (AMI group) confirmed by coronary angiography and 20 patients with coronary heart disease and other diseases (non AMI group), 30 healthy persons were selected as the control group. EsLabs hyper i300 automatic fluorescence immunoanalyzer and microfluidic quantitative Kit (immunofluorescence) were used to detect the Myo, CK-MB and cTnI, analyzed the diagnostic performance of Myo, CK-MB and cTnI, and verified the precision of the instrument. **Results** The differences of the levels of Myo, CK-MB and cTnI in the three groups were statistically significant ($P < 0.05$). ROC curve analysis showed that AUC of cTnI in diagnosing AMI was higher than that of Myo, CK-MB, Myo+CK-MB+cTnI in series and parallel ($P < 0.05$). The sensitivity of Myo+CK-MB+cTnI in parallel diagnosis of AMI (97.0%) was higher than that of Myo, CK-MB and Myo+CK-MB+cTnI in series ($P < 0.05$). The specificity of Myo+CK-MB+cTnI in series diagnosis of AMI (100.0%) was higher than that of Myo, CK-MB and Myo+CK-MB+cTnI in parallel ($P < 0.05$). The inter and intra assay precision of Myo, CK-MB and cTnI were less than 10%, which met the criteria. **Conclusion** Fluorescence immunomicrofluidic in quantitative detection of Myo, CK-MB and cTnI has good performance and diagnosis effect, which can basically meet the application of AMI auxiliary diagnosis, and can be applied to clinical laboratories.

Key words: fluorescent immunity; microfluidic; acute myocardia infarction; cardiac troponin I; creatine kinase isoenzyme; myoglobin

近年来,由于人们生活方式的改变和人口老龄化问题的影响,急性心肌梗死(AMI)的发病率逐年升高。有研究发现,早期诊断和治疗能显著降低 AMI 病死率,改善患者预后^[1]。心肌标志物为人体内在心肌损伤时能够出现特异性变化的指标^[2-3],理想的心肌标志物要求具有高灵敏度和高特异度。AMI 三联(以下称心梗三联)包括肌红蛋白(Myo)、肌酸激酶同工酶(CK-MB)和肌钙蛋白 I(cTnI),是目前临床常用的辅助 AMI 诊断的心肌损伤标志物。不同的检测方法所检测的心肌标志物水平可能存在差异,对其诊断 AMI 的灵敏度和特异度产生影响。深圳微点生物公司研发的 esLabs hyper i300 全自动干式荧光免疫分析仪是一款主动式微流控芯片检测仪,该仪器具有操作简便、通量高和速度快等优点^[4]。本研究评价了荧光免疫微流定量检测心梗三联的性能及诊断效果,现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2018 年 11 月至 2019 年 5 月本院急诊科收治的 53 例疑似 AMI 患者为研究对象,其中经冠状动脉造影确诊为 AMI 的患者 33 例为 AMI 组,其中男 24 例、女 9 例,平均年龄(66.7±16.8)岁;诊断为冠心病等其他疾病的患者 20 例为非 AMI 组,其中男 15 例、女 5 例,平均年龄(69.4±18.5)岁。选取同期健康体检者 30 例为对照组,其中男 22 例、女 8 例,平均年龄(67.4±16.4)岁。纳入标准:临床资料完整者。排除标准:合并肿瘤者;合并骨骼及肾脏疾病者。3 组研究对象年龄、性别比较,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 仪器与试剂 深圳微点生物公司生产的 esLabs hyper i300 全自动干式荧光免疫分析仪和微流控定量试剂盒(免疫荧光法)。

1.3 方法

1.3.1 诊断性能分析 以冠状动脉造影结果为诊断标准,评价荧光免疫微流定量检测结果的阳性率;并采用 ROC 曲线(以 Myo>100 ng/mL、CK-MB>5.0 ng/mL、cTnI>0.5 ng/mL 为切点)分析心梗三联对 AMI 的诊断性能。各指标的参考值:Myo<100 ng/mL、CK-MB<5.0 ng/mL、cTnI<0.5 ng/mL;阳性判断标准:参考值上限以下为阴性,超出参考值上限为阳性。

1.3.2 精密度验证 选择 4 个不同水平的临床标本(要求标本的心梗三联中至少有一项大于正常参考值),用同一批号微流控定量试剂盒(免疫荧光法),对每个标本各重复检测 5 次,进行批内精密度验证。用 10 个不同批号的微流控定量试剂盒检测高低两个水平质控血清,各重复检测 2 次,进行批间精密度验证。计算各项的变异系数(CV)、均数(\bar{x})及标准差(s)。精密度判断标准:批内精密度≤10%;批间精密度≤10%^[5]。

1.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件进行数据分析。偏态分布的计量资料以 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,组间比较采用秩和检验;计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验;采用 ROC 曲线分析心梗三联对 AMI 的诊断性能。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3 组 Myo、CK-MB 和 cTnI 水平比较 3 组 Myo、CK-MB 和 cTnI 水平比较,差异均有统计学意义($P<0.05$);其中 AMI 组与非 AMI 组 Myo、CK-MB、cTnI 水平高于对照组($P<0.05$);AMI 组 CK-MB 和 cTnI 水平高于非 AMI 组($P<0.05$)。见表 1。

表 1 3 组 Myo、CK-MB、cTnI 水平比较 [$M(P_{25}, P_{75})$, ng/mL]

组别	n	Myo	CK-MB	cTnI
对照组	30	13.48(7.83, 16.83)	2.06(1.56, 2.20)	0.10(0.07, 0.20)
非 AMI 组	20	94.22(42.21, 130.49)*	2.66(2.06, 5.96)*	0.21(0.07, 0.49)*
AMI 组	33	96.84(59.38, 139.14)*	3.46(2.55, 6.33)*#	0.76(0.51, 1.22)*#

注:与对照组比较,* $P<0.05$;与非 AMI 组,# $P<0.05$ 。

2.2 荧光免疫微流定量检测 Myo、CK-MB 和 cTnI 的阳性率比较 53 例疑似 AMI 患者中,荧光免疫微流定量检测 Myo、cTnI 的阳性率分别为 56.6%(30/53)、60.4%(32/53),与冠状动脉造影诊断 AMI 的阳性率[62.3%(33/53)]比较,差异无统计学意义($P>0.05$);而荧光免疫微流定量检测 CK-MB 的阳性率为 41.5%(22/53),与冠状动脉造影的诊断阳性率(62.3%)比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。

2.3 Myo、CK-MB、cTnI 单独及联合检测诊断 AMI 的性能分析 ROC 曲线分析结果显示,cTnI 诊断 AMI 的 AUC 值最大(0.901),与 Myo、CK-MB 及 Myo+CK-MB+cTnI 串联、并联比较,差异均有统计学意义($P<0.05$);cTnI 诊断 AMI 的灵敏度(87.9%)高于 Myo、CK-MB 及 Myo+CK-MB+cTnI 串联($P<0.05$),特异度(85.0%)高于 Myo、CK-MB、Myo+CK-MB+cTnI 并联($P<0.05$)。Myo+CK-

MB+cTnI 并联诊断 AMI 的灵敏度(97.0%)高于 Myo、CK-MB 及 Myo+CK-MB+cTnI 串联($P < 0.05$),但特异度仅为 35.0%。Myo+CK-MB+cTnI 串联诊断 AMI 的特异度(100.0%)高于 Myo、CK-MB 及 Myo+CK-MB+cTnI 并联($P < 0.05$),但灵敏

度仅为 39.4%。见图 1、表 2。

2.4 批内精密度验证 荧光免疫微流定量检测 Myo、CK-MB、cTnI 的批内精密度均不超过 10%,符合判断标准。见表 3。

表 2 Myo、CK-MB、cTnI 单独和联合诊断 AMI 的性能分析

指标	AUC	灵敏度(%)	特异度(%)	阳性预测值(%)	阴性预测值(%)
Myo	0.600	59.1	50.0	66.7	43.5
CK-MB	0.727	50.7	75.0	77.2	48.4
cTnI	0.901*#	87.9*#	85.0*#	90.6*#	81.0*#
Myo+CK-MB+cTnI 串联	0.671 Δ	39.4 Δ	100.0*#	100.0*	50.0 Δ
Myo+CK-MB+cTnI 并联	0.702 Δ	97.0*# \blacktriangle	35.0 Δ \blacktriangle	71.0 Δ \blacktriangle	87.5*

注:与 Myo 比较,* $P < 0.05$;与 CK-MB 比较,# $P < 0.05$;与 cTnI 比较, $\Delta P < 0.05$;与 Myo+CK-MB+cTnI 串联比较, $\blacktriangle P < 0.05$ 。

表 3 Myo、CK-MB 和 cTnI 批内精密度验证结果

参数	标本 1			标本 2			标本 3			标本 4		
	Myo	CK-MB	cTnI	Myo	CK-MB	cTnI	Myo	CK-MB	cTnI	Myo	CK-MB	cTnI
\bar{x} (ng/mL)	81.10	5.89	0.43	290.73	13.10	3.04	250.62	3.01	0.97	73.27	2.32	1.65
s(ng/mL)	3.10	0.33	0.03	11.36	0.77	0.26	14.65	0.26	0.07	3.65	0.12	0.16
CV(%)	3.82	5.60	6.98	3.91	5.88	8.55	5.85	8.64	7.22	4.99	5.17	9.70

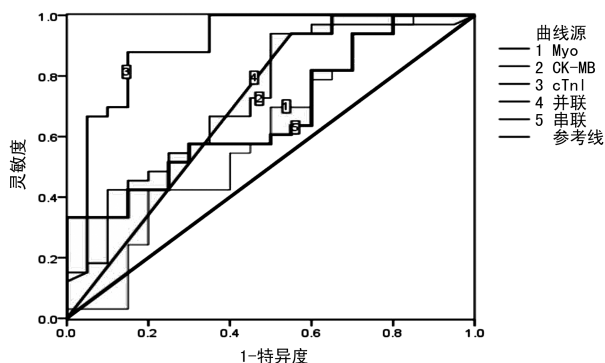


图 1 Myo、CK-MB、cTnI 单独及联合检测诊断 AMI 的 ROC 曲线

2.5 批间精密度验证 荧光免疫微流定量检测 Myo、CK-MB、cTnI 的批间精密度均不超过 10%,符合判断标准。见表 4。

表 4 Myo、CK-MB 和 cTnI 批间精密度验证结果

参数	cTnI		CK-MB		Myo	
	低水平	高水平	低水平	高水平	低水平	高水平
\bar{x} (ng/mL)	0.34	2.47	3.45	15.15	69.08	148.59
s(ng/mL)	0.02	0.15	0.19	0.49	3.90	8.10
CV(%)	5.88	6.07	5.51	3.23	5.65	5.45

3 讨论

AMI 是心肌持续缺血引发心肌细胞坏死的一种急性冠脉综合征。AMI 诊断的金标准为冠状动脉造

影。近年来,随着敏感性更强的心肌标志物的出现,心肌标志物对 AMI 等急性冠脉综合征的诊断价值成为研究的热点。CK-MB 是肌酸激酶的同工酶,心肌内含量较多,骨骼肌中也少量存在,所以在急性骨骼肌损伤时其可出现一过性升高。有研究发现,AMI 时 CK-MB 的释放量与梗死面积、程度、部位有关,所以即使其诊断 AMI 时的灵敏度和特异度不及 cTnI,但可用于梗死程度和再发梗死的评估^[6]。cTnI 是横纹肌的一种调节蛋白,是骨骼肌和心肌的结构蛋白,心肌缺血导致心肌损伤时,外周血 cTnI 水平迅速升高,且升高持续时间可达 2 周,有较长的诊断窗口期^[7]。此外,cTnI 对心肌损伤的诊断具有高灵敏度和特异度的特点,2007 年美国临床生化学会推荐 cTnI 为心肌梗死诊断的首选标志物^[6]。Myo 存在于肌肉中,尤其在心肌中含量丰富,其通常在 AMI 发作后 1.5 h 即可升高,是 AMI 时出现最早的血清标志物,其灵敏度高,但特异度较低,骨骼肌损伤、创伤、肾功能衰竭等疾病都可引起 Myo 水平的升高^[8]。有研究证实,Myo、CK-MB 和 cTnI 三者联合检测更有利于 AMI 的诊断^[9]。

本研究采用微流控定量试剂盒,应用 esLabs hyper i300 全自动干式荧光免疫分析仪定量检测 cTnI、CK-MB 和 Myo 水平,进行精密度验证,并用冠状动脉造影诊断结果作为金标准,评价其检测性能。研究结果表明,荧光免疫微流定量检测 cTnI、CK-MB 和

Myo 的批内、批间精密密度均不超过 10%，符合判定标准。荧光免疫微流定量检测 Myo、cTnI 的阳性率分别为 56.6%、60.4%，与冠状动脉造影的诊断阳性率(62.3%)比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),表明两种方法诊断结果一致性较好;而荧光免疫微流定量检测 CK-MB 的阳性率(41.5%)明显低于冠状动脉造影诊断的阳性率(62.3%)($P < 0.05$),表明用 CK-MB 诊断 AMI 时可能出现漏诊情况,考虑与受试对象 CK-MB 的释放量和发病时间可能影响 CK-MB 的检测准确性有关。

本研究中,AMI 组与非 AMI 组 Myo、CK-MB、cTnI 水平均高于对照组($P < 0.05$);AMI 组 CK-MB、cTnI 水平高于非 AMI 组($P < 0.05$)。表明 Myo、CK-MB 和 cTnI 水平与心肌损伤相关,并且 CK-MB 和 cTnI 水平与心肌损伤的严重程度有关,对 AMI 患者的诊断和疾病评估方面有重要的价值。以冠状动脉造影的诊断为标准,制作 ROC 曲线,结果显示,cTnI 的 AUC 值最大,与 Myo、CK-MB 及 Myo+CK-MB+cTnI 串联、并联比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$);cTnI 诊断 AMI 的灵敏度高于 Myo、CK-MB 及 Myo+CK-MB+cTnI 串联($P < 0.05$),特异度高于 Myo、CK-MB、Myo+CK-MB+cTnI 并联($P < 0.05$),表明 cTnI 诊断 AMI 的特异度、灵敏度高,诊断性能好,为心肌损伤的首选标志物,与文献[10]报道一致。而 CK-MB、Myo 对心肌梗死也具有一定的诊断价值,但本研究 Myo、CK-MB 和 cTnI 诊断 AMI 的灵敏度、特异度等与部分文献的结果存在一定差别,可能与研究对象中有部分早期 AMI 患者 Myo、CK-MB 和 cTnI 还未升高有关。Myo+CK-MB+cTnI 并联诊断 AMI 的灵敏度为 97.0%,但特异度仅为 35.0%;而 Myo+CK-MB+cTnI 串联诊断 AMI 的特异度最高(100.0%),但灵敏度仅为 39.4%。所以临床可根据实际需求选择联合检测的方式,以提高诊断的准确性,减少漏诊和误诊。

综上所述,cTnI 诊断 AMI 的特异度、灵敏度高,心梗三联并联诊断 AMI 灵敏度高,串联诊断 AMI 的

特异度高,可根据临床需求有选择性地进行检测,以提高诊断的准确性。荧光免疫微流定量检测心梗三联的性能良好,诊断效果佳,能基本满足 AMI 的辅助诊断应用,适用于临床实验室。

参考文献

- [1] 陈伟伟,隋辉,马丽媛.中国心脑血管病流行现状及防治进展[J].心脑血管病防治,2017,32(6):79-83.
- [2] 王恒秋,刘雨峰,王双.三种心肌标志物对诊断急性心肌梗死的价值[J].实验与检验医学,2014,32(6):775-777.
- [3] 郭梅,罗涛,李春梅,等.心脏型脂脂肪酸结合蛋白与缺血修饰白蛋白在急性心肌梗死早期的诊断价值[J].中国实验诊断学,2014,18(10):1621-1623.
- [4] 苏文涛,冯可,秦建华.微流控芯片在心肌标志物检测中的研究进展[J].分析化学,2015,43(10):1490-1498.
- [5] APPLE F S, JESSE R L, NEWBY L K, et al. National academy of clinical biochemistry and IFCC committee for standardization of markers of cardiac damage laboratory medicine practice guidelines: analytical issues for biochemical markers of acute coronary syndromes[J]. Clin Chem, 2007, 53(4): 552-574.
- [6] 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.不稳定性心绞痛和非 ST 段抬高心肌梗死诊断与治疗指南[J].中华心血管杂志,2007,35(4):295-304.
- [7] KATUS H A, REMPPIS A, SCHEFFOLD T, et al. Intracellular compartmentation of cardiac troponin T and its release kinetics in patients with reperfused and nonreperfused myocardial infarction[J]. Am J Cardiol, 1991, 67(16):1360-1367.
- [8] 焦文学,王杰.肌红蛋白检测在急性心肌梗死中的应用[J].检验医学与临床,2012,9(14):1777-1778.
- [9] 陈兴文.心肌损伤标志物联合检测在急性心肌梗死诊断中的价值[J].检验医学与临床,2010,7(11):1057-1058.
- [10] 刘厚明,江先雨,肖颜玉,等.应用胶体金技术平台心梗三联定量检测效能的评价[J].国际检验医学杂志,2015,36(6):822-824.

(收稿日期:2019-07-28 修回日期:2019-11-06)

(上接第 595 页)

- [11] 沈合春,卢科,石庆芬,等.开颅术前经皮扩张气管切开对高血压脑出血预后影响的研究[J].现代诊断与治疗,2018,29(14):2236-2238.
- [12] 孙玉宝,刘怀兴.ICU 脑出血患者肺部感染的影响因素分析[J].中国实用神经疾病杂志,2017,20(13):74-76.
- [13] 包长顺,曾瑜,陈礼刚,等.早期气管切开在重症高血压脑

出血患者术后的应用[J].医学综述,2015,21(8):1493-1495.

- [14] 李晓卫,孙昭胜,陈建超,等.脑出血术后高压氧治疗时机及并发应激性溃疡出血的临床研究[J].中国全科医学,2011,14(27):3101-3103.

(收稿日期:2019-07-21 修回日期:2019-11-02)