

胶体金法和免疫荧光法检测血浆肌钙蛋白 I 的比较

吴吉江(江苏省邳州市人民医院检验科 221300)

【摘要】目的 通过两种方法检测结果的比较,对胶体金法(Colloidal Gold Assay)检测血清心肌肌钙蛋白 I(cTnI)进行方法学评价,并探讨其临床应用价值。**方法** 应用胶体金法测定 20 名健康人和 20 例急性心肌梗死(AMI)患者的血清 cTnI 水平,并与免疫荧光法(IFA)检测结果相比较,系统研究胶体金法测定 cTnI 的敏感性、特异性、可用度。**结果** 胶体金法(Y)与免疫荧光法(X)具有良好的相关性($Y=0.801X-0.174, r=0.980$),结果差异无统计学意义($P>0.05$)。诊断敏感度、特异度、可用度分别为 85.0%、95.0%、80.3%,阳性和阴性似然比分别为 17.0%和 15.8%,阳性预测值和阴性预测值分别为 94.4%、86.4%。**结论** 胶体金法操作简便、结果准确可靠、自动化程度高,且检测快速,具有较高的临床可用度;cTnI 对诊断 AMI 有高度特异性和敏感性,且持续时间较长,适合在临床工作中推广应用。

【关键词】 胶体金法; 免疫荧光法; 肌钙蛋白 I; 急性心肌梗死

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2012.11.023 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2012)11-1325-02

Comparison of colloidal gold assay and immunofluorescence assay in determination of serum cardiac troponin I WU Jijiang (Department of Laboratory, Pizhou Municipal People's Hospital, Pizhou, Jiangsu 221300, China)

【Abstract】Objective To conduct the methodological evaluation on the colloidal gold assay for detecting cardiac troponin I(cTnI) by the comparison of two detection methods and to investigate its clinical application value. **Methods** Serum cTnI level was determined by the colloidal gold assay in 20 healthy individuals and 20 patients with acute myocardial infarction(AMI) and the detection results were compared with the results detected by the immunofluorescence assay. The sensitivity, specificity and availability of the colloidal gold assay for detecting cTnI were systematically studied. **Results** The colloidal gold assay(Y) had good correlation with the immunofluorescence assay(X) ($Y=0.801X-0.174, r=0.980$). There was no statistical difference between two methods($P>0.05$). The sensitivity, specificity and availability were 85.0%, 95.0% and 80.3% respectively. The positive likelihood ratio and the negative likelihood ratio were 17.0% and 15.8% respectively. The positive predictive value (PPV) and the negative predictive value (NPV) were 94.4% and 86.4% respectively. **Conclusion** The colloidal gold method is reliable, available, fairly rapid and easy to perform with high automation degree. cTnI has the high specificity and sensitivity for diagnosing AMI, and lasts for a long time. This method is suitable for routine determinations of serum cTnI levels in clinical laboratory.

【Key words】 colloidal gold assay; immunofluorescence assay; troponin I; acute myocardial infarction

随着心肌肌钙蛋白(cardiac troponin I, cTnI)测定方法的标准化、检测系统相对固定及质量控制措施的不断完善,2000年,欧洲心脏学会(ESC)与美国心脏学会(ACC)对急性心肌梗死(AMI)进行了重新定义,联合发表了新标准,确定 cTnI 为 AMI 诊断的首选心脏标志物,以 cTnI 取代心肌肌酸激酶同工酶(CK-MB)作为评价心肌坏死和诊断心肌梗死“金标准”。定量的 cTnI 检测在临床上已经应用广泛,但以往临床应用过程中发现各种方法之间差异很大,目前市场上检测 cTnI 的方法很多^[1-2]。本文对美国 Biosite Triage 免疫荧光检测系统及美国 Relia 胶体金多功能免疫检测系统应用相同的实验方案,利用相同的临床样本进行分析,对二者进行比较评估。

1 资料与方法

1.1 一般资料

1.1.1 健康对照组 2009 年 11 月至 2010 年 1 月健康者 20 例,男 13 例,女 7 例,平均年龄 71 岁(51~86 岁),均为本院门诊各项化验指标正常者。

1.1.2 AMI 组 本院心内科确诊为 AMI 的住院患者 20 例,其中男 11 例,女 9 例,平均年龄 69 岁(46~88 岁)。

1.2 标本采集 以上对象均采肘静脉血,所有标本均取 2 mL

于乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)抗凝真空采血管中,收集血浆置于-20℃冰箱保存,备检。

1.3 仪器与试剂 美国博适(Biosite)公司的 Triage 诊断仪、美国瑞莱(Relia)公司的多功能免疫检测系统,试剂均为仪器原厂配套试剂。

1.4 实验方法 Triage 诊断仪采用免疫荧光法。Relia 多功能免疫检测系统采用胶体金法,应用双向侧流免疫反应原理,通过双抗体夹心法制备而成。实验操作均严格按照试剂盒说明书进行。

1.5 统计学处理 2 种方法的阳性率比较采用 χ^2 检验;相关性用线性相关分析。

2 结果

2.1 胶体金法与免疫荧光法比较 用两种方法分别对 20 例健康对照者和 20 例确诊为 AMI 的患者进行测定,对所测结果进行 χ^2 检验,差异无统计学意义($\chi^2=0.25, P>0.05$),见表 1。

2.2 以免疫荧光法为诊断标准,胶体金法的各项指见表 2。

2.3 两种测定方法的相关性分析 将 2 种方法对 20 例 AMI 患者所测结果进行回归分析,得胶体金法(Y)与免疫荧光法

(X)具有良好的相关性,回归方程为 $Y=0.801X-0.174$,相关系数 $r=0.980$,表明二者呈高度相关。

表 1 胶体金法与荧光免疫法的一致性分析(n)

Relia(胶体金法)	Biosite(免疫荧光法)		合计
	阳性	阴性	
阳性	17	1	18
阴性	3	19	22
合计	20	20	40

表 2 胶体金法的各项指标(%)

项目	结果	项目	结果
敏感度(SE)	85.0	阳性似然比(PLR)	17.00
可用度	80.3	特异度(SP)	95.0
总一致性	90.0	调整一致性	90.0
Youden 指数	80.0	阴性预测值(NPV)	86.4
诊断效率	90.0	阴性似然比(NLR)	15.8
阳性预测值(PPV)	94.4		

3 讨 论

肌钙蛋白(Troponin, Tn)是心肌和骨骼肌收缩的重要调节蛋白,由 3 个亚基组成:肌钙蛋白 C、肌钙蛋白 T 和肌钙蛋白 I。TnI 是肌动蛋白抑制亚基。它也有 3 种亚型:快骨骼肌亚型、慢骨骼肌亚型和心肌亚型,这种 TnI 亚型分别源于 3 种不同的基因。cTnI 与快、慢骨骼肌型 cTnI 的氨基酸序列分别存在 52%和 54%的差异,且 cTnI 氨基末端比骨骼肌 TnI(sTnI)多 31 个氨基酸,这种独特的氨基酸顺序列使之具有较高的心肌特异性,特别是 AMI 具有高度的组织特异性。cTnI 在血清中主要以复合物形式存在,其中 90%是 cTnI-cTnC 复合物,约 5%为 cTnI-cTnT 复合物^[3-4]。

cTnI 在 AMI 发病后会迅速释放入血,胸痛后 4~8 h 升高,14~36 h 达峰值,持续时间为 3~7 d,血中浓度可高达 100~300 $\mu\text{g/L}$ ^[5]。因其在心肌损伤中特异性好和灵敏度高,1999 年 ESC 和 ACC 联合发表文件,建议将 cTnI 的异常变化作为诊断 AMI 的必要条件^[6]。

尽管 ACC 和 ESC 推荐使用 cTnI 作为诊断心肌损伤的确定性标志物,但由于 Tn 本身在体外很容易被蛋白酶等降解,检测体系尚未完善,导致各种检测方法之间存在着不一致性,甚至存在很大的差异,cTnI 检测的标准化问题亟待解决。

cTnI 最早以放射免疫试验(RIA)进行检测,使用多克隆抗体,交叉反应较多,分析灵敏度仅为 10 ng/mL,耗时达 24~36 h。后来采用免疫放射试验(IRMA)和酶联免疫吸附试验(ELISA),使用单克隆抗体,提高了灵敏度和特异性,分析灵敏度可达 0.1 ng/mL,但检测变异系数(CV)仍较大,耗时长。目前常用全自动化学发光免疫分析法(ACLIA)。ACLIA 使用单克隆抗体,以全自动检测设备取代手工操作,使检测的重复性和可靠性大幅提高,分析灵敏度可达 0.01 ng/mL,且检测耗时

短,一般都可在 20 min 内完成样品 cTnI 检测^[7]。及时检测系统(POCT)是 cTnI 检测方法发展的另一个方向,它可在急诊室、病房直接开展 cTnI 检测,使用全血标本。由于减少了中间步骤,仪器检测时间仅需约 10 min,使从取血到出报告的时间大为缩短^[8]。

本文初步评估了两种 cTnI POCT 系统:一种是美国博适公司的 Triage 诊断仪,采用了双抗体夹心免疫荧光技术,美国食品与药物管理局(FDA)认证灵敏度达到 98%,特异性达到 96%,准确度在 95%以上,该仪器具有快速、准确、操作简单等特点,已经被全球大量的临床和实验中心所采用,在国内外均得到了认可。另一种是美国 Relia 生物公司的多功能免疫检测系统,该系统采用具有独立知识产权的胶体金双向免疫侧流方法,较其他检测系统在 POCT 市场具有显著的技术优势。此外,与 Triage 诊断仪相比,该检测系统可以同时进行多种不同检验项目或者不同血液标本(血浆、血清、全血)的检测,大大缩短了检测时间,提高了检测效率。

本研究结果表明,以免疫荧光技术为诊断标准,胶体金法检测 AMI 的敏感性和特异性分别为 85%和 95%,临床可用度为 80.3%,两种方法的一致性为 90%,与 Triage 诊断仪所测的结果具有很好的相关性,用 χ^2 检验证实两种方法的检验结果差异无统计学意义($P>0.05$)。表明胶体金法测定血清 cTnI 的结果准确可靠;cTnI 是敏感、特异的心肌标志蛋白,对心肌损伤,特别是对 AMI 的诊断、治疗、检测和预后评估均具有重要临床价值,适合在临床工作中推广使用。

参考文献

- [1] 杨振华,潘柏申,许俊堂. 心肌损伤标志物的应用准则[J]. 中华检验医学杂志,2002,(3):185-189.
- [2] 王峰,向定成. 肌钙蛋白 I 检测方法的研究进展[J]. 实用医学杂志,2008,24(8):1275-1277.
- [3] 郭玮,潘柏申. 心肌肌钙蛋白——心肌损伤的确定生化标志[J]. 上海医学检验杂志,2000,15(1):8-10.
- [4] 漆良琴. 心肌肌钙蛋白 I 的医学用途及检测进展[J]. 中国当代医药,2010,(15):7-8.
- [5] Adams JE 3rd, Sicard GA, Allen BT, et al. Diagnosis of perioperative myocardial infarction with measurement of cardiac troponin I[J]. N Engl J Med,1994,330(10):670-674.
- [6] Apple FS. Clinical and analytical standardization issues confronting cardiac troponin I[J]. Clin Chem,1999,40(1):18-20.
- [7] 李华宁,刘傲雪,彭钰茹. 两种心肌肌钙蛋白测定结果临床应用价值探讨[J]. 吉林医学,2010,(19):3031-3032.
- [8] 李志梁,吴宏超,丁明学,等. 床边检测心肌肌钙蛋白 T、I 方法建立与初步应用[J]. 中华心血管病杂志,2000,28(6):472-473.

(收稿日期:2011-12-27)