

一种检测心肌肌钙蛋白 I 的化学发光技术的应用

姚思远 张骞 吴吻慧 吴璧纯 曹亦菲*

杭州师范大学公共卫生学院

DOI:10.12238/bmtr.v4i2.4986

[摘要] 目的: 探讨建立一种新型检测心肌肌钙蛋白I(Cardiac troponin I,cTnI)的免疫分析方法。方法: 对杭州某院2021年5月急性胸痛患者静脉采血,采用均相化学发光方法检测血样标本信号值。采用SPSS软件分析数据,线性回归拟合标准曲线。配对t检验分析组间差异,相关性分析采用Pearson相关分析。结果: 建立了线性关系良好的标准曲线($r^2=0.995$)。对不同浓度质控品的信号值测定结果重复性良好,变异系数低,三个浓度的变异系数(CV)分别为6.08%,4.29%和3.45%。对本试剂和雅培试剂的检测结果进行相关性分析, r^2 为0.9855,相关性良好。结论: 采用本试剂对心肌肌钙蛋白I的检测结果精密度高,对样品的检测中与雅培试剂的检测结果显示良好的相关性。

[关键词] 心肌肌钙蛋白; 化学发光免疫技术; 急性心肌梗死

中图分类号: R542.2+2 文献标识码: A

An Application of chemiluminescence technique for the detection of Cardiac troponin I

Siyuan Yao Qian Zhang Wenhui Wu Bichun Wu Yifei Cao*

School of Public Health Hangzhou Normal University

[Abstract] Objective: To establish a new immunoassay method for the detection of the Cardiac troponin I (cTnI) protein. Methods: Venous blood was collected from a patient with acute chest pain in a hospital in Hangzhou in May 2021, and the homogeneous chemiluminescence method was used to detect the signal value of the blood sample. SPSS software was used to analyze the data, and the standard curve was fitted by linear regression. Paired T test was used to analyze differences between groups, and Pearson correlation analysis was used for correlation analysis. Results: A standard curve with good linear relationship ($R^2=0.995$) was established. There was good repeatability of signal values determination results of quality control substances at different concentrations and low coefficient of variation, as indicated by coefficient of variations (CVs) of 6.08%, 4.29% and 3.45% at three concentrations, respectively. The correlation analysis was carried out on the detection results of this reagent and Abbott reagent, and the r^2 was 0.9855, which was a good correlation. Conclusion: The detection results of cardiac troponin I using this reagent have high precision, and the detection results of the samples show a good correlation with the detection results of Abbott reagents.

[Key words] Cardiac troponin I (cTnI) protein; chemiluminescence immunoassay; acute myocardial infarction

急性心肌梗死(Acute myocardial infarction, AMI)是指因冠状动脉阻塞导致心脏血液循环障碍,使心脏功能损伤的急性病症,该疾病病死率较高,对患者生命造成严重威胁。早期诊断治疗可以降低病死率,提高患者生存质量。近年来,心肌肌钙蛋白(Cardiac troponin, cTn)凭借其AMI临床诊断的良好特异性和敏感性,逐渐成为临床诊断AMI的主要心脏标志物^[1]。心肌肌钙蛋白是一种蛋白络合物,分布于心肌肌球蛋白上的规则间隙,调控心脏肌肉收缩。它由心肌肌钙蛋白T(cTnT)、心肌肌钙蛋白I(cTnI)和心肌肌钙蛋白C(cTnC)三种亚单位组成。其中,cTnT和cTnI有独特的氨基酸序列,具有很好的心肌特异

性。cTnT和cTnI在正常人体血清中含量极微,当心肌细胞受损后游离的cTnT和cTnI从心肌细胞内迅速释放进入血液,使血中浓度迅速升高。因此心肌肌钙蛋白I(cTnI)是一个十分敏感和特异的急性心肌梗死标志物。

1 材料与方法

1.1 临床资料。随机选取某院2021年5月1日至31日间以急性胸痛为首发症状的入院患者87例,其中男性患者50例,女性37例,平均年龄60.3岁。其性别和年龄差异无统计学意义($P > 0.05$),可以有效地避免性别和年龄对检测结果的干扰。

1.2 检测方法。每位急性胸痛患者在发病4h后抽取静脉血

样标本3-6ml, 离心处理 (3000/min, 10min) 后, 取出上清液储存备用。将cTnI单克隆抗体1偶联9, 10-二氢吡啶衍生物 (cTnI-A), cTnI单克隆抗体2与辣根过氧化物酶偶联 (cTnI-HRP)。取cTnI标准品用PBS缓冲液 (PH=7.4) 稀释至不同浓度值20ng/ml, 5ng/ml, 1ng/ml, 0.2ng/ml, 0.04ng/ml, 0.01ng/ml, 4℃保存, 作为定标品。采用双抗体夹心法, 用PBS缓冲液将上述制备的cTnI-A和cTnI-HRP分别稀释1500倍和20000倍, 待测样品分别加50ul, 另外加入10ul本底抑制剂于透明反应管中。37℃孵育15min后, 加入100ul激发液立即启动检测。

1.3统计方法。SPSS13.0软件对数据进行分析, 采用双对数直线回归拟合标准曲线。配对t检验分析组间差异, 相关性分析采用Pearson相关分析。检验水准定为 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1标准曲线的建立。对不同浓度的定标品进行检测得到信号光值如表1, 作标准曲线如图1, 可见浓度与信号值呈良好的线性关系 ($r^2=0.995$)。采用双对数直线回归拟合标准曲线得到方程 $y=188.13+0.998x$ 。

表1 不同浓度定标品与信号光值

浓度 (ng/mL)	信号值 (RLU)
0	47
0.01	113
0.04	471
0.2	2179
1	9530
5	39532
20	124487

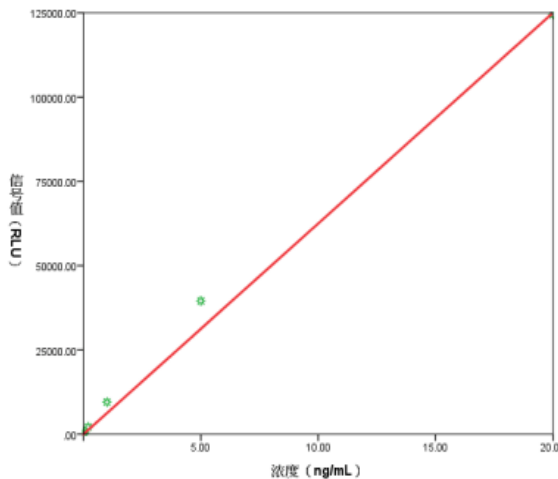


图1 不同浓度定标品与信号光值标准曲线

2.2本试剂对质控品的检测结果分析。将质控品分为三个不同浓度, 分别为QC-LOW, QC-MEDIUM, QC-HIGH, 每个浓度重复测量十次信号值, 所得的浓度值如表2, 三个浓度的变异系数 (CV)

分别为6.08%, 4.29%和3.45%。可见测定的精密度较高。

表2 不同浓度质控品信号值精密度分析

质控品 (QC)	QC-L	QC-M	QC-H
理论浓度 (ng/mL)	0.1	1	10
测试浓度 (ng/mL)	0.105	0.977	10.322
	0.093	0.945	9.364
	0.102	1.034	9.766
	0.110	1.035	10.243
	0.099	0.974	9.982
	0.103	1.044	9.701
	0.096	1.036	10.146
	0.092	0.967	9.728
	0.098	1.068	10.098
	0.092	0.963	10.501
测试均值 (M)	0.099	1.004	9.985
标准偏差 (SD)	0.006	0.043	0.344
变异系数 (CV)	6.08%	4.29%	3.45%

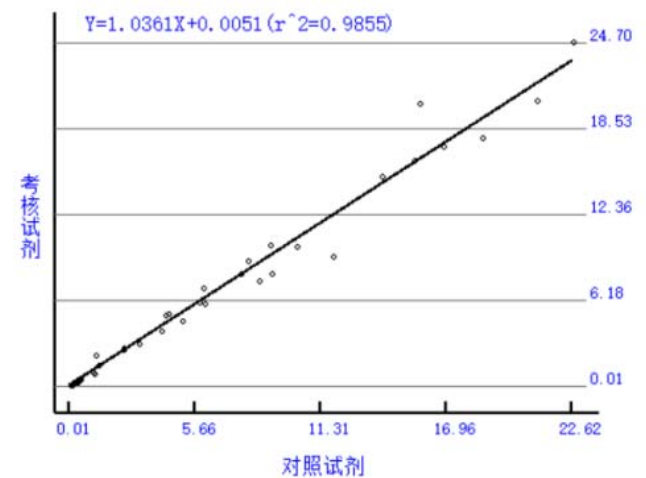
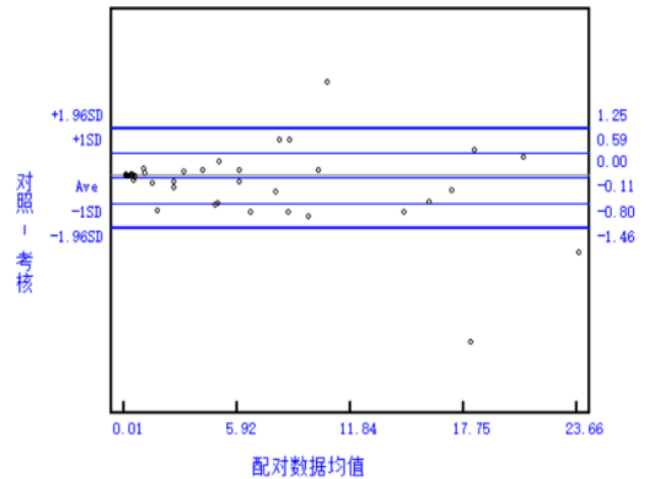


图2 考核试剂和对照试剂检测结果回归散点图

2.3本试剂与对照试剂检测结果的相关性分析。将本试剂作为考核试剂,雅培试剂作为对照试剂。二者对87个样本进行检测,检测结果进行配对t检验, $P>0.05$,表明考核试剂和对照试剂的检测结果没有显著性差异。回归分析得到回归方程 $y=1.0361x+0.0051$ 。 r^2 为0.9855,相关性良好,斜率为1.0361(图2),表明其检测结果与对照非常接近,准确度高。

3 讨论

对于心肌肌钙蛋白I(cTnI)的检测,目前临床上比较普遍应用的方法主要是胶体金免疫层析法、酶联免疫法和化学发光免疫分析法等。胶体金试纸检测操作简单快捷,使用方便,适合于床旁检测,但易受主观因素影响,常有假阴性发生。酶联免疫法和化学发光免疫分析法与胶体金免疫层析法比较结果准确,误差小,灵敏度高,可以实现定量检测。但是这两种检测体系均需载体,检测过程中需要洗涤等步骤,操作较为繁琐,并且增加了检测的成本。

为了克服这些缺点,本实验采用一种新型闪光型均相化学发光技术用于检测cTnI,该方法无需微孔板、磁珠、微球等载体,检测过程中无需洗涤步骤,操作简单用时少,并且灵敏度高、重复性好,对检测仪器要求更低。实验结果表明,本试剂检测结果重复性好,精密度高,与市面主流产品雅培试剂的相比,检测结果无显著差异($P>0.05$),也得到了很好的相关性($r^2=0.9855$)。综上,本研究所采用的方法成本低,精密度高,值得在临床上推广应用。

[基金项目]

浙江省自然科学基金(LY19H260002)、杭州师范大学

2021-2022学年“本科生创新能力提升工程”项目(cx2021028)研究成果。

[参考文献]

- [1]王佳玉,王德昭,陈威,等.中青年急性ST段抬高型心肌梗死患者的临床特点研究[J].中国全科医学,2017,20(26):37-42.
- [2]尤曦,钱承嗣,孙燕.胸痛患者高敏肌钙蛋白T表达对急性心肌梗死的诊断价值[J].中国药物与临床,2019,19(21):3723-3725.
- [3]马欣,苏毅.急性心肌梗死患者在急诊中急检肌钙蛋白T的临床应用[J].临床医学,2017,37(2):6-7.
- [4]Masotti S, Musetti V, Prontera C, et al. Evaluation of analytical performance of a chemiluminescence enzyme immunoassay (CLEIA) for cTnI using the automated AIA-CL2400 platform[J]. Clin Chem Labor Med, 2018, 56(7): e174-e176.

作者简介:

姚思远(2000--),女,汉族,浙江嘉兴人,本科在读,研究方向:体外诊断试剂研发。

吴叻慧(2000--),女,汉族,浙江嘉兴人,本科在读,研究方向:体外诊断试剂研发。

吴璧纯(2001--),女,汉族,浙江海宁人,本科在读,研究方向:体外诊断试剂研发。

张骞(2001--),女,汉族,浙江宁波人,本科在读,研究方向:体外诊断试剂研发。

通讯作者:

曹亦菲(1978--),女,汉族,浙江金华人,博士,副教授,研究方向:体外诊断试剂研发。