

• 短篇论著 •

颗粒增强型免疫透射比浊法检测肌红蛋白的性能评价^{*}

蒋洪昆,郭 伟[△],吕桂桦

(广西壮族自治区柳州市人民医院检验科,广西柳州 545001)

摘 要:目的 对颗粒增强型免疫透射比浊法检测肌红蛋白进行性能评价。方法 根据美国临床和实验室标准协会(CLSI)文件对颗粒增强型免疫透射比浊法检测肌红蛋白的精密度、准确度、参考范围进行验证。结果 该方法的批内变异系数是 0.70%~0.78%,批间变异系数是 0.50%~0.43%,小于厂商提供的 1.2%的变异系数。准确度评价显示的偏倚均小于要求范围,评价通过。参考区间符合厂商说明。结论 颗粒增强型免疫透射比浊法检测肌红蛋白的基本性能均符合厂商声明。

关键词:肌红蛋白; 颗粒增强型免疫透射比浊法; 性能评价

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.23.025

中图法分类号:R446.8

文章编号:1673-4130(2019)23-2922-03

文献标识码:B

肌红蛋白(MYO)属于血红素蛋白家族,是肌肉内的储氧蛋白,仅仅存在于心肌细胞和氧化的骨骼肌纤维内并能与氧气可逆的结合。它能够很好地在肌肉内储存氧气并能在组织缺氧时将其释放出来;也能够能够在肌肉活动增加时调节细胞内的氧浓度。据研究表明,肌红蛋白是一个灵敏、可靠的早期诊断急性冠状动脉综合征(ACS)和检测溶栓疗效的指标^[1]。同时,肌红蛋白的检测对急性心肌梗死、心力衰竭的诊断及严重程度的判断,急性一氧化碳中毒、糖尿病酮症等的诊断方面均有重要的临床意义^[2-6]。颗粒增强型免疫透射比浊法的检测原理是使用抗人肌红蛋白抗体包被的乳胶颗粒和样品中的肌红蛋白进行抗原-抗体反应,反应完成后,固定时间检测吸光度来确定肌红蛋白的浓度。本文参照美国临床和实验室标准协会(CLSI)相关文件对颗粒增强型免疫透射比浊法检测肌红蛋白进行性能评价。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2017 年 6—9 月柳州市人民医院住院患者和门诊患者及健康体检者,所有标本均为常规检查的剩余标本,不涉及任何与患者隐私相关的医疗信息。

1.2 仪器与试剂 Olympus AU2700 型全自动生化分析仪,颗粒增强型免疫透射比浊法检测肌红蛋白试剂采用上海德赛诊断系统的试剂盒(批号 14432)。

1.3 方法

1.3.1 精密度评价 参照 CLSI 颁布的 EP15-A 文件《用户对精密度和准确度性能的核实试验——批准

指南》,取选取两种浓度水平的样本各一份,浓度水平应与厂家精密度评价时所用样本接近或与医学决定水平接近,每天分析 1 个批次,共进行 5 天,每份标本每天重复测定 3 次。计算出批内变异系数(CV)、批间 CV 各项指标,最后对照厂家声明进行验证。

1.3.2 准确度评价 统计分析室间质评结果,对参加的卫生部室间质评的 10 个不同批号的样本测定结果进行分析,以卫生部临床检验中心组织的室间质量评价的靶值为真值,本仪器的相对偏倚按下列公式计算 偏倚=(测定值-靶值)/靶值×100%,10 个批号质控物的实验室检测结果均在允许偏移范围,则正确度验证通过。

1.3.3 参考区间验证 选择 20 份体检合格的健康人标本,在检测系统上进行测定,对结果进行统计并对仪器说明书提供的参考区间进行验证,若 20 份标本的检测结果显示均在仪器说明书提供的参考区间内或仅有 2 个标本超出,则验证通过。否则,进行参考区间确立实验。

1.4 统计学处理 采用 SPSS13.0 进行统计学分析。

2 结 果

2.1 精密度评价结果 2 个水平的样本每天分析 1 个批次,共进行 5 d,每份标本每天重复测定 3 次。计算出批内 CV、批间 CV 各项指标,批内 CV 值和批间 CV 值及实验室变异系数均小于厂商说明 1.2%,说明该方法有较高的重复性,精密度验证通过。水平 1 和水平 2 的精密度结果见表 1。

2.2 准确度评价结果 表 2 显示的是参加卫生部临

^{*} 基金项目:广西壮族自治区卫生和计划生育委员会自筹经费科研课题(Z2015119)。

[△] 通信作者,E-mail:jhk_mao@163.com。

本文引用格式:蒋洪昆,郭伟,吕桂桦.颗粒增强型免疫透射比浊法检测肌红蛋白的性能评价[J].国际检验医学杂志,2019,40(23):2922-

床检验中心全国心肌标志物室间质量评价的结果。

表 1 精密度评价结果

项目	MYO 的检测	
	50 μg/L	400 μg/L
批内		
$\bar{x} \pm s (\mu\text{g/L})$	55.76±0.37	416.03±3.24
CV%	0.66	0.78
批间		
$\bar{x} \pm s (\mu\text{g/L})$	55.76±0.28	416.03±1.79
CV%	0.50	0.43

表 2 准确度评价

质评物编号	测定值 (μg/L)	靶值 (μg/L)	偏倚	允许范围(μg/L)	评价 结果
1 号	71.89	68.75	4.57	48.12~89.38	通过
2 号	149.11	134.20	11.11	93.94~174.46	通过
3 号	352.20	334.68	5.23	234.28~435.08	通过
4 号	46.00	44.65	3.02	31.25~58.04	通过
5 号	150.00	133.65	12.23	93.56~173.74	通过
6 号	297.04	273.50	8.61	191.45~355.55	通过
7 号	36.70	39.90	-8.02	27.93~51.87	通过
8 号	134.50	116.00	15.95	81.20~150.80	通过
9 号	63.02	53.58	17.62	37.51~69.65	通过
10 号	291.80	271.30	7.56	189.91~352.69	通过

2.3 参考区间验证 结果显示在选取的 20 例健康参考个体中,MYO 的测量值均在厂商提供的参考区间内(<70 μg/L),说明厂家提供的生物参考区间适合于本实验室使用。

3 讨 论

肌红蛋白是一种广泛存在于心肌和骨骼肌中的蛋白质,具有储存和运输氧的功能^[7]。当机体的横纹肌受损伤,心肌和骨骼肌中的肌红蛋白便释放入血液中,检测血清中的肌红蛋白水平对于心肌损伤的疾病和多发伤患者的临床诊断、治疗及预后判断具有重要意义。BHAYANA 等^[8]研究了急性心肌梗死(AMI)患者血清中肌红蛋白的变化情况,研究发现发生 AMI 后,肌红蛋白可于胸痛发作后 2~3 h 在血液中的达到病理水平,早于肌酸激酶(CK)和肌酸激酶同工酶(CK-MB)。国内研究者发现多发伤患者的血清肌红蛋白浓度均有升高,然后呈逐渐下降趋势^[5],可见检测血清/血浆中的肌红蛋白在急性心肌梗死等疾病临床诊断、治疗及预后判断中有非常重要的作用^[9]肾功能不全患者不仅具有早期监测心血管事件的意义,而且可以作为肾功能的监测指标之一^[10]。

目前临床上检测血清中肌红蛋白的方法有胶体金免疫层析法^[11]、光激化学发光法^[12]和免疫透射比浊法^[13]等。胶体金免疫层析法是利用肌红蛋白单克隆抗体标记胶体金,另一株抗人肌红蛋白单克隆抗体

包被膜作为检测线,兔抗鼠 IgG 抗体包被膜作为对照线,建立的半定量金免疫层析方法,虽然可以快速得到结果,但是结果为半定量,不利于临床的鉴别诊断;光激化学发光法是使用针对不同表位的 2 株单克隆抗体,一株包被发光颗粒,另一株进行生物素化,与包被有链霉亲和素的感光微粒共同构成检测试剂来测定肌红蛋白水平的方法,其优点是敏感度高,但检测成本比较高,不利于节约患者开支;本研究所关注的颗粒增强型免疫透射比浊法是新一代免疫测定技术,实验原理是使用抗人肌红蛋白抗体包被的乳胶颗粒和样品中的肌红蛋白进行抗原-抗体反应,反应完成后,固定时间检测吸光度来确定肌红蛋白的浓度。它大大提高了免疫比浊技术的敏感性、特异性,具有快速、准确、重复性好、操作简单、试剂价格低廉等优点。特别是它不需要特殊的仪器,在普通生化分析仪上即可使用,极大地扩展了生化仪的使用范围,明显降低了检测成本,有利于急诊中的使用。本研究对颗粒增强型免疫透射比浊法检测肌红蛋白精密度、准确度、参考范围进行性能评价,精密度评价选择了 50 μg/L 和 400 μg/L 2 个浓度按 CLSI 评价方案进行精密度评价,结果显示批内变异系数为 0.66%和 0.78%,批间变异系数为 0.50%和 0.43%,均小于厂商声明的 1.2%的变异系数。准确度按照 CLSI EP15-A2 文件进行,采用卫生部室间质评的 10 个不同批号的样本测定结果进行分析,结果显示所有的测定值均在允许范围内,准确度验证通过。本实验按照 CLSI C28-A2 文件推荐的方法进行参考范围的验证,选取了 20 份体检合格的健康人标本,检测结果显示所有结果均在厂商提供的参考区间内,符合文件要求,说明厂家提供的生物参考区间适合于本实验室使用。综上所述,颗粒增强型免疫透射比浊法检测肌红蛋白的分析性能与厂商提供的性能参数基本一致,均符合临床要求。

参考文献

[1] 朱海兵,李音湖. 肌红蛋白、N 末端脑钠肽前体的检测在心力衰竭患者中的临床价值[J]. 国际检验医学杂志, 2014,35(5):620-621.

[2] 梁文燕,石金霞. 急性一氧化碳中毒患者肌红蛋白水平测定及其临床意义[J]. 解放军医学杂志,2007,44(7):690-690.

[3] 罗成富. 探讨慢性心衰患者联合检测肌红蛋白和心型脂脂肪酸结合蛋白的临床价值[J]. 中国实验诊断学,2015,19(3):380-382.

[4] 王海风,郑海龙,宋钦华,等. 新诊断酮症倾向 2 型糖尿病患者肌酶谱和肌红蛋白水平的变化[J]. 中国糖尿病杂志,2014,22(4):344-346.

[5] 徐善祥,张茂,干建新. 血清肌红蛋白和肌酸激酶评估多发伤预后的比较研究[J]. 中华创伤杂志,2014,30(1):50-

54.
- [6] 吕海光,王环宇,李真,等. 血清肌红蛋白检测在急性心肌梗死临床检验中的应用效果分析[J]. 中国实用医药, 2018,13(31):44-45.
- [7] BRUNORI M, BOURGEOIS D, VALLONE B. The structural dynamics of myoglobin[J]. J Struct Biol, 2004,147(3):223-234.
- [8] BHAYANA V, RALPH HENDERSON A. Biochemical markers of myocardial damage[J]. Clin Biochem, 1995, 28(1):1-29.
- [9] 朱吉刚. 4 种血清心肌标志物在 AMI 患者中的水平及其临床意义分析[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(13): 1642-1645.
- 短篇论著 •
- [10] 丁红梅,储楚,杨瑞霞,等. 高敏肌钙蛋白 T 和肌红蛋白在肾功能不全患者中的变化及意义[J]. 国际检验医学杂志, 2018 ,39(14):1708-1711.
- [11] 郑佐娅,曹丹如,陈悦,等. 检测肌红蛋白的半定量金免疫层析法的研究[J]. 检验医学, 2007,22(6):645-647.
- [12] 马宏伟,赵卫国,潘柏申. 血清肌红蛋白光激化学发光免疫测定法的建立[J]. 检验医学, 2006,21(1):55-57.
- [13] 刘行超,曾桂芬,农妍,等. 免疫比浊法检测肌红蛋白的性能验证及临床应用评估[J]. 检验医学与临床, 2015, 12(7):883-884.
- (收稿日期:2019-04-11 修回日期:2019-07-21)

基因芯片技术对结核分枝杆菌利福平及异烟肼的耐药性检测研究*

孙桂英,赵 刚,沈 燕,徐密琴,高胜利,俞 净,钮志林[△]
(苏州市吴江区第一人民医院感染科,江苏苏州 215200)

摘 要:**目的** 考察基因芯片技术检测结核分枝杆菌(Mtb)对利福平(RFP)与异烟肼(INH)耐药性的效果。**方法** 选取苏州市吴江区第一人民医院感染科发现的痰液涂片阳性的结核病患者纳入研究。采用基因芯片技术检测 Mtb 对 RFP 与 INH 的耐药性,并传统药敏试验结果进行对比,同时采用 DNA 测序进行验证。**结果** 基因芯片检测 RFP 耐药的符合率为 97.47%,灵敏度为 94.90%,特异度为 97.81%,阳性预测值为 85.32%,阴性预测值为 99.31%,Kappa 值为 0.952;检测 INH 耐药的符合率为 94.45%,灵敏度为 78.16%,特异度为 99.84%,阳性预测值为 99.38%,阴性预测值为 93.25%,Kappa 值为 0.823;检测 MDR 的符合率为 97.83%,灵敏度为 82.50%,特异度为 99.47%,阳性预测值为 94.29%,阴性预测值为 98.16%,Kappa 值为 0.927;经 DNA 测序验证,基因芯片检测 RFP 与 INH 耐药准确率分别为 99.52%与 99.76%。**结论** rpoB531、526 位点突变与 katG315 位点突变可能是苏州吴江地区 Mtb 产生 RFP 和 INH 耐药的关键性分子机制,基因芯片技术能快速且高准确度地检测出这些位点的突变情况,对 INH 耐药检测的灵敏度尚有较大提升空间。

关键词:基因芯片; 耐药; 利福平; 异烟肼
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.23.026
文章编号:1673-4130(2019)23-2924-04
中图法分类号:R446.5
文献标识码:B

结核病是因感染结核分枝杆菌(Mtb)而发生的并具有传染性的慢性疾病,可累及全身各种器官,最为常见是以肺部受累形成的肺结核病。根据 WHO 的 2016 年结核病年度报告显示^[1],肺结核病在 2015 年的全球新发病例高达 1 040 万例,死亡病例为 140 万例,超过 HIV;同年我国新发生肺结核病 91 万例,仅次于印度(238 万例)与印尼(102 万例)位列全球第 3 位,死亡病例约 3.5 万。当前,我国是全球 22 个结核病高负担国家及 27 个耐多药(MDR)结核病高负担国家之一^[2]。自 1993 年 WHO 宣布“全球结核病紧急状态”以来,多个国家及地区陆续出现了 1 例或多例 MDR 结核病。全球有 3.9%的新发病例和 21%的复诊患者患有 MDR 结核病^[1]。结核病耐药已成为全世界结核病疫情控制的巨大阻碍。建立有效且快速的 Mtb 耐药检测方法对临床合理用药及结核病疫情控制意义重大。长期以来,传统罗氏比例法由于操作简单、经济、方便、易于推广等因素而被广泛应用于 Mtb 药敏试验,并被视为结核病诊断的“金标准”。但该方法耗时较长,步骤繁琐,已很难满足当前对 MDR 结核病诊断及及时性的需求。伴随着 Mtb 耐药分子机制的阐明,几种快速检测结核病耐药的分子药敏检测技术得以问世,其中基因芯片技术日益受到重视。与此同

* 基金项目:吴江区卫计委科教兴卫项目(WWK201608);吴江一院院级项目(院 201605)。
[△] 通信作者,E-mail:niuizhilin1023@yahoo.com。
本文引用格式:孙桂英,赵刚,沈燕,等. 基因芯片技术对结核分枝杆菌利福平及异烟肼的耐药性检测研究[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(23):2924-2927.