

麻醉学杂志, 2021, 37(10):1052-1056.

水平与患者短期预后的关系[J]. 中国循证心血管医学杂志, 2018, 10(11):1322-1324.

[19] 洪亮, 沈晓, 章萍. 7001 例心脏大血管手术后谵妄的危险因素分析[J]. 中国医师进修杂志, 2020, 43(11):1016-1021.

(收稿日期: 2023-04-25 修回日期: 2023-12-08)

[20] 高洪峰, 程端, 雷静, 等. 体外循环心脏手术后血淀粉酶

• 临床研究 • DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2024.05.029

心肌肌钙蛋白 I 检测结果假阴性病例报道并文献复习^{*}

刘路遥, 袁文涛, 江 波, 任书文, 何成山[△]

上海中医药大学附属第七人民医院医学检验科, 上海 200137

摘要:目的 探讨 1 例临床上心肌肌钙蛋白 I(cTnI)检测结果假阴性的形成原因, 并提出解决策略。方法 分析 1 例 cTnI 检测结果与其他心肌损伤标志物严重不符案例的临床资料, 采用不同 cTnI 检测系统进行复检, 检测样本的抗核抗体谱和 cTnI 自身抗体(cTnIAAb), 通过向样本中加入 cTnI-肌钙蛋白 C(TnC)抗原, 明确 cTnIAAb 对 cTnI 检测的负性干扰程度; 以“cTnI 免疫学检测干扰”和“cTnIAAb”为关键词, 对知网和 SCI 数据库从 1995 年至 2023 年发表的文献进行检索。结果 患者因右下肢动脉栓塞入院, 心律失常, 心房纤颤, 全心增大, B 型钠尿肽(BNP)水平大幅度升高, 而 cTnI 检测结果正常, 其余心肌损伤标志物水平均大幅度升高; cTnI 复检结果正常, 抗核抗体 SSB、Scl-70、CENPB 均显示为弱阳性, cTnIAAb 强阳性; 血清样本加入 cTnI-TnC 抗原后, cTnI 回收率随着加入 cTnI-TnC 抗原量的增多而上升, 呈正相关($P < 0.05$), 具有良好的线性关系($R^2 = 0.98$); 文献检索结果: 共检索到文献 35 篇, 排除 15 篇, 最终保留文献 20 篇。结合病历分析和文献复习, 该文主要从临床上干扰 cTnI 免疫检测的角度出发, 重点叙述 cTnIAAb 的研究进展, 总结 cTnIAAb 干扰 cTnI 免疫检测的成因和机制等研究现状。结论 cTnIAAb 可与 cTnI 特异性抗体竞争性结合 cTnI 检测结果抗原表位负性干扰 cTnI 的免疫检测, 临床上遇到 cTnI 检测结果和其他心肌损伤标志物严重不符时, 应当积极寻找原因为临床提供精准的检验结果。

关键词: 心肌肌钙蛋白 I; 免疫检测; 负性干扰; 抗原; 心肌肌钙蛋白 I 自身抗体

中图法分类号: R446.1

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2024)05-0711-04

心肌肌钙蛋白 I(cTnI)在心肌损伤时可迅速释放至外周循环中, cTnI 因其心脏特异性好, 灵敏度高, 检测窗口期长, 已成为临床上诊断心肌损伤的首选血清学标志物^[1]。cTnI 的临床检测基于夹心抗体免疫法, 检测/捕获抗体与 cTnI 不同抗原表位相结合, 通过检测抗体上酶标基团的化学发光信号, 计算 cTnI 水平^[2]。近年来随着免疫检测和单克隆抗体技术的提升, 溶血、黄疸、脂血、抗凝剂等分析前因素的影响已变得微乎其微^[3], 相对而言一些内源性自身抗体对免疫学检测的干扰作用更加令人关注^[4-5]。本研究报道了 1 例因免疫性心肌肌钙蛋白 I 自身抗体(cTnIAAb)导致 cTnI 与其他心肌损伤标志物检测结果严重不相符的临床案例, 现报道如下。

1 病例资料

1.1 一般资料 患者, 女, 76 岁, 主诉右下肢隐痛 3 d, 加重 1 d。入院查体: 右下肢膝关节以下皮肤青紫,

活动受限。辅助检查: (1) 右下肢血管超声。右侧股总动脉、股深动脉、股浅动脉、腘动脉栓塞, 右侧下肢深静脉血流通畅。(2) CT 检查。主动脉粥样硬化, 心脏增大, 心包少量积液, 下侧双肢动脉粥样硬化, 右侧股动脉和腘动脉节段性闭塞。(3) 心电图检查。心房颤动, 左室高电压, T 波 V4、V5、V6 倒置, Q-T 间期延长。(4) 心脏超声检查。全心扩大, 室间隔增厚, 二尖瓣, 主动脉瓣轻度反流。(5) 实验室检查。cTnI 0.023 ng/mL(正常参考值 < 0.026 ng/mL), 肌酸激酶同工酶(CM-MB) 113 ng/mL(正常参考值 < 5 ng/mL), 肌红蛋白(MYO) 648 ng/mL(正常参考值 0~106 ng/mL), B 型钠尿肽(BNP) 282 pg/mL(正常参考值 10~100 pg/mL), 乳酸脱氢酶(LDH) 273 U/L(正常参考值 125~220 U/L), 肌酸激酶(CK) 1 241 U/L(正常参考值 50~310 U/L)。入院诊断: 右下肢动脉栓塞, 主动脉及双下肢动脉硬化, 心房颤

* 基金项目: 上海市卫生健康委员会临床科研专项面上项目(202040165); 上海市浦东新区卫生健康委员会卫生计生科研项目(PW2021A-18)。

[△] 通信作者, E-mail: xiaohechengshan@163.com。

动,高血压。

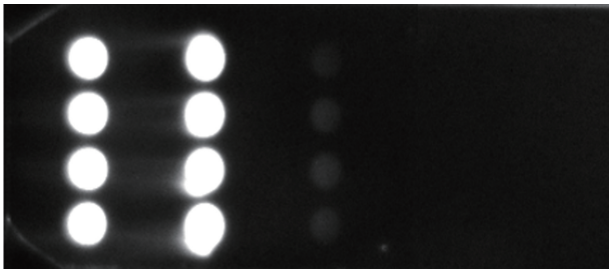
1.2 病例分析 患者年龄较大,全身性疾病较多,心电图显示心律失常,心房纤颤,形成的血栓经血液循环造成下肢动脉急性栓塞。心脏超声检查显示全心增大,室间隔增厚,BNP 水平大幅度升高,提示患者出现较为严重的心力衰竭表现。左室高电压,T 波 V4、V5、V6 倒置,提示心肌出现缺血性改变。心肌损伤标志物 CK、CM-MB、MYO 水平均大幅度升高,但 cTnI 为 0.023 ng/mL(正常参考值<0.026 ng/mL)提示检测结果正常。患者心律失常,心功能较差导致代偿性全心增大,心肌长期缺血,产生心肌损伤,造成心肌损伤的血清学标志物水平显著升高,而 cTnI 的检测结果却未见明显异常。对这一异常现象进行分析,笔者猜想 cTnI 检测结果出现了假阴性。

1.3 cTnI 检测异常结果的分析

1.3.1 cTnI 检验结果复检 自检 Abbott Architect i2000 全自动免疫分析仪状态和室内质控,确认无误后对该样本进行复测,复测结果 cTnI 为 0.025 ng/mL,与原结果基本一致。为了验证是否为检测系统的因素,笔者另使用 Roche Cobas e602 和 Sunlant SLP-001 检测系统及相关配套试剂对样本的 cTnI 水平进行复测,检测结果均显示为阴性。鉴于 3 种不同 cTnI 检测系统对于此患者血清样本的 cTnI 检测结果均为阴性,笔者考虑是否作为一种内源性自身抗体干扰了 cTnI 的免疫学检测,造成 cTnI 的检测结果异常。

1.3.2 检测抗核抗体谱免疫球蛋白 G(IgG)水平 采用 Sunlant 公司抗核抗体谱 IgG 检测试剂盒,检测该血清样本的抗核抗体,结果显示:Ro-52、SS-A/Ro、PO、线粒体抗体(M2)、组蛋白、双链 DNA(dsDNA)、Jo-1、核小体、nRNP/Sm、Sm、PM-Scl、类风湿因子(RF)为阴性,SSB(30.68 RU/mL)、Scl-70(34.53 RU/mL)、CENPB(451.29 RU/mL)呈弱阳性(以上各项参考值≤20.00 RU/mL),提示该患者可能存在系统性红斑狼疮、弥漫性系统性硬化等一系列自身免疫性疾病,但病程记录中未见。基于患者存在自身免疫性疾病,外周循环中含有多种自身免疫性抗体,证实了笔者的猜想,可能是某种内源性的自身抗体干扰了 cTnI 的检测造成假阴性结果,最有可能的为 cTnIAAb。

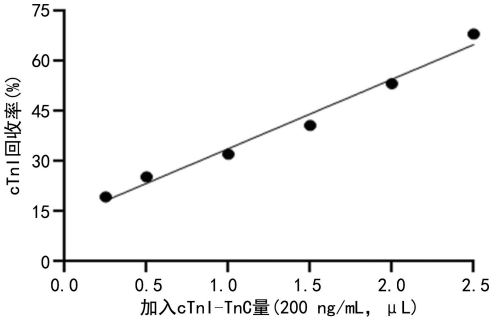
1.3.3 采用前期自建的一种基于蛋白芯片的 cTnIAAb 检测方法,以天然 cTnI-肌钙蛋白 C(TnC)和 TnC 为抗原,辣根过氧化物酶-鼠抗人 IgG 作为二抗^[6],检测该样本血清 cTnIAAb。结果显示 cTnI-TnC 列光圈明亮饱满,检测信号值达 8 004.1 AU/mL,而 TnC 列仅为 405.3 AU/mL,提示该患者血清样本 cTnIAAb 强阳性,见图 1。



注:第 1~3 列点样顺序:鼠源性 I-IRP 抗体、cTnI-TnC、TnC。

图 1 cTnIAAb 检测芯片结果图

1.3.4 cTnIAAb 对 cTnI 检测的影响 为了明确该患者血清样本中的 cTnIAAb 对 cTnI 检测的负性干扰程度,笔者在 cTnIAAb 阳性和阴性基质血清样本(cTnI 和 cTnIAAb 均为阴性)中加入一定体积终水平为 200 ng/mL cTnI-TnC 的天然抗原,置于 37℃ 水浴箱孵育 30 min 后经 Architect i2000 全自动免疫分析仪上机测定,cTnI 测定值分为 cTnI 回收浓度和理论浓度,并计算 cTnI 回收率,cTnI 回收率=(cTnI 回收浓度-基础 cTnI 值)/cTnI 理论浓度(因样本基础 cTnI<0.026 ng/mL 可忽略不计)。结果显示加入 0.25 μL、0.50 μL、1.00 μL、1.50 μL、2.00 μL、2.50 μL 200 ng/mL 的 cTnI-TnC 天然抗原后,cTnIAAb 阳性样本中 cTnI 回收率分别为 19.37%、25.36%、32.18%、40.78%、53.28%、68.15%,cTnI 回收率随着加入 cTnI-TnC 抗原量的增多而升高,呈正相关,具有良好的线性关系($R^2=0.98, P=0.001$),见图 2。



注:cTnIAAb 阳性患者血清的 cTnI 回收率, $Y=20.73 \times X + 13.03, R^2=0.98$ 。

图 2 cTnI 回收率与加入 cTnI-TnC 量的相关性

2 文献复习

以“cTnI 免疫学检测干扰”和“cTnIAAb”为关键词对知网和 SCI 数据库从 1995 年至 2023 年发表的文献进行检索。共检索到文献 35 篇,排除 15 篇,最终保留文献 20 篇。结合病历分析和文献复习,本文主要从临床上干扰 cTnI 免疫检测的角度出发,重点叙述 cTnIAAb 的研究进展,总结 cTnIAAb 干扰 cTnI 免疫检测的成因和机制等研究现状。

2.1 cTnIAAb 的研究进展 外周循环中的 cTnI 抗原会促进机体的自身免疫系统产生特异性的 cT-

nIAAb^[7]。1996 年 BOHNER 等^[8]首次在 1 例接受冠状动脉旁路手术的患者体内发现了一种可与 cTnI 结合的 IgG,造成该患者 cTnI 检测结果正常而其他心肌损伤血清标志物水平大幅度上升,后续 ERIKSSON 等^[9]研究证实了该 IgG 为造成 cTnI 检测结果异常的主要原因,并首次提出了 cTnIAAb 的概念。cTnIAAb 广泛存在于缺血性心肌病、扩张性心肌病等心肌类疾病中^[10-11],cTnIAAb 与心肌损伤后的持续性炎症反应、心脏功能受损、心室重构和心力衰竭等密切相关^[12-14]。

2.2 cTnIAAb 干扰 cTnI 免疫检测机制 在 cTnI 的免疫学检测中,肽链的 N 端(a. a. r 1-30)和 C 端(a. a. r 30-110)抗原氨基酸残基易被蛋白酶水解,中心稳定区域(a. a. r 30-110)的氨基酸受 TnC 的保护^[15],由于其化学性质较为稳定被广泛作为特异性 cTnI 检测抗体位点,在后续的研究中发现即使针对中心稳定区域设计的特异性检测抗体依然会受到多种因素的干扰,其中最主要的就是 cTnIAAb^[16-17]。cTnIAAb 可被特异性的 cTnI 捕获或检测抗体竞争结合循环中的 cTnI 抗原,造成 cTnI 检测结果失真^[18]。有研究显示,cTnIAAb 与 cTnI 肽链的 a. a. r 65-74、83-93、86-90、104-119、117-126 和 130-145 抗原表位相结合^[16],这些抗原表位主要位于 cTnI 肽链的中心稳定区域并向羧基端延伸,其中受 cTnIAAb 严重影响的中心稳定区域与大部分商业化 cTnI 试剂盒的捕获/检测抗体结合位点相似,这也证实了大部分 cTnI 检测试剂都无法摆脱 cTnIAAb 干扰的原因。

3 讨 论

本研究中患者心功能不全,全心代偿性增大伴严重心力衰竭,心肌存在长期缺血性损伤,cTnI 持续释放至外周循环中。基于患者存在自身免疫性疾病史,长期微量的 cTnI 抗原会促进机体的自身免疫系统产生 cTnIAAb。血清 cTnI 检测结果为阴性,其他心肌损伤标志物如:CK、CM-MB、MYO 水平均大幅度升高,结合临床资料笔者猜想 cTnI 异常检测结果可能是 cTnIAAb 造成的。笔者首先使用原检测系统对样本 cTnI 进行了复检,又采用了 Roche 和 Sanlanc 两种不同 cTnI 检测系统进行 cTnI 复测,结果均为阴性。不同 cTnI 检测系统中针对 cTnI 抗原设计的特异性抗体的抗原表位存在一定的差异,基于国际临床化学联合会公布的全球知名的 cTnI 检测系统特异性抗体抗原表位(检测/捕获抗体)^[19],其中 Abbott Architect cTnI(a. a. r 24-41,a. a. r 86-91,a. a. r 42-49);Roche cobas e601/602 cTnI(a. a. r 86-91,a. a. r 22-44),笔者猜想可能是由于样本中的 cTnIAAb 封闭 cTnI 上述区段的抗原表位,使得检测/捕获抗体无法结合 cTnI,

造成 cTnI 检测结果呈假阴性。

血液中的 cTnI 存在形式复杂,单体 cTnI 易被蛋白酶水解,大部分以 cTnI-TnC 复合物的形式存在^[20]。因此笔者模拟 cTnI 在外周循环中的主要存在形式,采用 cTnI-TnC 天然抗原点样芯片,自建了一种全新的 cTnIAAb 检测方法^[1],结果显示该患者血清 cTnIAAb 为强阳性,证实了笔者的猜想。为进一步研究 cTnIAAb 对 cTnI 检测系统的负性干扰程度,笔者将 cTnI-TnC 抗原加入 cTnIAAb 阳性患者血清和 cTnIAAb 阴性介质血清中,进行 cTnI 回收实验,结果显示 cTnIAAb 阳性血清中加入 2.5 μ L 的 200 ng/mL cTnI-TnC 天然抗原后,cTnI 回收率为 19.37%,即使加入 2.5 μ L 的 200 ng/mL cTnI-TnC 天然抗原时,cTnI 回收率也仅为 68.15%。cTnI 回收率随着加入 cTnI-TnC 天然抗原量的增多而增加,呈正相关,具有良好的线性关系($R^2=0.98$, $P=0.001$),研究结果证实该样本血清中的 cTnIAAb 可严重干扰 Architect i2000 对 cTnI 的检测,导致 cTnI 检测结果出现假阴性,产生 cTnI 结果与其他心肌损伤标志物严重不相符的现象。

综上所述,cTnIAAb 可与 cTnI 特异性抗体竞争性结合 cTnI 抗原表位,从而导致 cTnI 检测结果严重失真,产生 cTnI 结果与心肌损伤标志物严重不符的现象。以上提示在临床工作中遇到此类现象时,应当首先自检当日质控及仪器状态以保证检验结果的准确性,积极与临床医生沟通了解患者的临床表征与 cTnI 检测结果是否相符,共同寻找 cTnI 检测结果异常的原因。

参考文献

- [1] CHAULIN A. Cardiac troponins; contemporary biological data and new methods of determination[J]. Vasc Health Risk Manag, 2021, 17: 299-316.
- [2] 刘春燕,邓朝晖,宋颖博,等. 心肌肌钙蛋白 I 检测方法的性能评价[J]. 临床检验杂志, 2022, 40(7): 490-494.
- [3] 黄燕鸣. 分析前变异对化学发光分析法检测心肌肌钙蛋白 I 结果的影响[J]. 福建医药杂志, 2018, 40(3): 111-114.
- [4] 黎锐,李一荣. 内源性抗体对临床免疫检测的干扰及对策[J]. 中华检验医学杂志, 2016, 39(11): 811-813.
- [5] 陈超超,毕晓洁,沈波,等. 类风湿因子干扰导致化学发光法检测 cTnI 假阳性结果处理与分析[J]. 检验医学, 2021, 36(7): 768-770.
- [6] 何成山,姚晓阳,蒋秀娣,等. 自建微阵列化学发光免疫分析法定量检测心肌肌钙蛋白 I 自身抗体及其初步临床应用[J]. 检验医学, 2021, 36(3): 318-324.
- [7] VILELA E M, BETTENCOURT-SILVA R, DA COSTA J T, et al. Anti-cardiac troponin antibodies in clinical hu-

man disease; a systematic review[J]. Ann Transl Med, 2017,5(15):307.

[8] BOHNER J, VON PAPE K W, HANNES W, et al. False-negative immunoassay results for cardiac troponin I probably due to circulating troponin I autoantibodies[J]. Clin Chem, 1996,42(12):2046.

[9] ERIKSSON S, HELLMAN J, PETTERSSON K. Autoantibodies against cardiac troponins[J]. N Engl J Med, 2005,352(1):98-100.

[10] MIETTINEN K H, ERIKSSON S, MAGGA J, et al. Clinical significance of troponin I efflux and troponin autoantibodies in patients with dilated cardiomyopathy[J]. J Card Fail, 2008,14(6):481-488.

[11] LINDAHL B, VENGE P, EGGERS K M, et al. Autoantibodies to cardiac troponin in acute coronary syndromes[J]. Clin Chim Acta, 2010,411(21):1793-1798.

[12] 周桑,王洪如,薛苗,等. 急性心肌梗死患者抗心肌肌钙蛋白 I 自身抗体与左心室重构关系的分析[J]. 中国循环杂志, 2018,33(4):322-326.

[13] WU Y, QIN Y H, LIU Y, et al. Cardiac troponin I autoantibody induces myocardial dysfunction by PTEN signaling activation[J]. EBioMedicine, 2019,47:329-340.

[14] VOLZ H C, BUSS S J, LI J, et al. Autoimmunity against cardiac troponin I in ischaemia reperfusion injury[J]. Eur J Heart Fail, 2011,13(10):1052-1059.

[15] VYLEGZHANINA A V, KOGAN A E, KATRUKHA I A, et al. Anti-cardiac troponin autoantibodies are specific to the conformational epitopes formed by cardiac troponin I and troponin T in the ternary troponin complex[J]. Clin Chem, 2017,63(1):343-350.

[16] SAVUKOSKI T, TWARD A, HELLBERG S, et al. Epitope specificity and IgG subclass distribution of autoantibodies to cardiac troponin[J]. Clin Chem, 2013,59(3):512-518.

[17] 谷雪妹,刘路遥,任书文,等. 心肌肌钙蛋白 I 自身抗体对心肌肌钙蛋白 I 检测的影响及临床意义[J]. 标记免疫分析 & 临床, 2023,30(4):573-577.

[18] NAKANO K, SUGAWA S, SEIMIYA M, et al. Frequencies of anti-troponin I vs. anti-troponin T autoantibodies and degrees of interference on troponin assays[J]. Lab Med, 2023,54(3):317-323.

[19] APPLE F S, JAFFE A S, COLLINSON P, et al. IFCC task force on clinical applications of cardiac bio-markers. IFCC educational materials on selected analytical and clinical applications of high-sensitivity cardiac troponin assays[J]. Clin Biochem, 2015,48(45):201-203.

[20] KATRUKHA I A, KOGAN A E, VYLEGZHANINA A V, et al. Full-Size cardiac troponin I and its proteolytic fragments in blood of patients with acute myocardial infarction: antibody selection for assay development[J]. Clin Chem, 2018,64(7):1104-1112.

(收稿日期:2023-05-06 修回日期:2023-11-29)

• 临床研究 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2024.05.030

血栓弹力图在儿童骨折后凝血功能监测中的临床应用价值

彭雪松,郭玉霞,何柏霖,温普生,杨媛淇,胡娟
重庆医科大学附属儿童医院输血科,重庆 400000

摘要:**目的** 探究血栓弹力图(TEG)检测用于评估儿童骨折创伤后凝血状态变化的临床应用价值。**方法** 选取 2019 年 7 月 1 日至 10 月 31 日在该院诊断为骨折且需急诊住院手术的患儿 90 例作为急诊骨折组,另选择同期在该院拟进行骨科择期矫形手术的患儿 110 例作为对照组。检测并比较两组 TEG 参数[反应时间(R)、血凝块形成时间(K)、角度(α)、血块最大振幅(MA)]和普通凝血参数[凝血酶原时间(PT)、活化部分凝血活酶时间(APTT)、纤维蛋白原(FIB),D 二聚体(D-D)]。采用 Pearson 相关分析急诊骨折组 TEG 参数与普通凝血参数的相关性。**结果** 急诊骨折组 R、K、APTT 均低于对照组, α 、MA、PT、FIB、D-D 均高于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。R 与 APTT 呈正相关($r=0.327, P<0.05$);MA 与 FIB 呈正相关($r=0.509, P<0.05$);其他参数间均无相关性($P>0.05$)。**结论** TEG 可检测到骨折创伤后患儿血液的高凝状态,TEG 联合普通凝血参数检测能更全面地评估患儿凝血功能状态。

关键词: 血栓弹力图; 创伤; 儿童; 凝血状态; 骨折
中图分类号: R726.8 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-9455(2024)05-0714-04

创伤性疾病为儿科的常见一类疾病,创伤后出现的高凝状态,可能会导致血栓事件的发生^[1]。儿童创伤人群中静脉血栓栓塞症(VTE)的发生率为 0.000 3%~0.400 0%^[2],且近年来 VTE 的发病率呈上升趋势。下肢骨折被证实为与 VTE 的发生有关,儿童盆腔、下肢骨折 VTE 的发生率为 0.058%~0.680%^[3]。有多项指南推荐使用 D-二聚体(D-D)预测发生血栓的风险,通过彩超、静脉造影等影像学技术筛查 VTE^[4-5]。