

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织  
国际局

(43) 国际公布日  
2025年2月20日 (20.02.2025)



(10) 国际公布号  
**WO 2025/036431 A1**

- (51) 国际专利分类号:  
**G01N 33/48** (2006.01)
- (21) 国际申请号: PCT/CN2024/112205
- (22) 国际申请日: 2024年8月14日 (14.08.2024)
- (25) 申请语言: 中文
- (26) 公布语言: 中文
- (30) 优先权:  
202311024062.1 2023年8月14日 (14.08.2023) CN
- (71) 申请人: 深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司 (**SHENZHEN MINDRAY BIO-MEDICAL ELECTRONICS CO., LTD.**) [CN/CN]; 中国广东省深圳市南山区高新技术产业园区科技南十二路迈瑞大厦1-4层, Guangdong 518057 (CN)。

- (72) 发明人: 张轶 (**ZHANG, Yi**); 中国广东省深圳市南山区高新技术产业园区科技南十二路迈瑞大厦1-4层, Guangdong 518057 (CN)。 刘雨青 (**LIU, Yuqing**); 中国广东省深圳市南山区高新技术产业园区科技南十二路迈瑞大厦1-4层, Guangdong 518057 (CN)。 李可 (**LI, Ke**); 中国广东省深圳市南山区高新技术产业园区科技南十二路迈瑞大厦1-4层, Guangdong 518057 (CN)。 伊万·卡特鲁卡 (**KATRUKHA, Ivan**); 俄罗斯莫斯科市华沙高速28A号, Moscow 117186 (RU)。 亚历山大·E·科根 (**KOGEN, Alexander E.**); 俄罗斯莫斯科市华沙高速28A号, Moscow 117186 (RU)。
- (74) 代理人: 中国贸促会专利商标事务所有限公司 (**CCPIT PATENT AND TRADEMARK LAW OFFICE**); 中国北京市西城区复兴门内大街158号远洋大厦10层, Beijing 100031 (CN)。

- (81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN,

MU, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW。

- (84) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:  
— 包括国际检索报告(条约第21条(3))。

(54) **Title:** MYOCARDIAL DAMAGE ASSESSMENT METHOD, APPARATUS, SAMPLE ANALYSIS SYSTEM AND USE THEREOF

(54) 发明名称: 心肌损伤评估方法、装置、样本分析系统及其用途

(57) **Abstract:** The present application relates to a myocardial damage assessment method, an apparatus, a sample analysis system and the use thereof. The method, the apparatus and the sample analysis system can quickly and accurately perform assessment with respect to the cause and risk of myocardial damage of individuals, thus providing guidance for diagnosis decision making and treatment decision making.

(57) 摘要: 本申请涉及心肌损伤评估方法、装置、样本分析系统及其用途。所述方法、装置、样本分析系统能够快速、准确地评估个体心肌损伤病因及风险, 指导诊断决策和治疗决策。



WO 2025/036431 A1

## 心肌损伤评估方法、装置、样本分析系统及其用途

本申请是以 CN 申请号为 202311024062.1, 申请日为 2023 年 8 月 14 日的申请为基础, 并主张其优先权, 该 CN 申请的公开内容在此作为整体引入本申请中。

### 5 技术领域

本申请属于疾病诊断领域, 具体涉及一种在体外评估受试者心肌损伤的方法、获取用于评估受试者心肌损伤的特征参数的装置、样本分析系统以及用于大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物定量检测的试剂和/或用于总心肌肌钙蛋白三元复合物定量检测的试剂在制备试剂盒中的用途。

### 10

#### 背景技术

心血管疾病严重威胁着人类的健康。在中国, 心血管疾病的发病率和死亡率逐年上升。胸痛是各种心血管疾病的常见症状, 伴有各种临床表现, 通常与呼吸困难有关。急性致死性胸痛的风险极高。在急诊科对胸痛患者进行准确的危险分层和诊断, 建立快速合理的诊断程序, 对于正确的管理和治疗决策定制至关重要。区分胸痛的原因, 尤其是急性和非急性心肌损伤, 具有重要的临床意义和迫切的临床需求。

心肌肌钙蛋白 (cTn) 是一种高度特异性和敏感性心肌损伤生物标志物, 被广泛应用于检测心肌梗死后或心肌梗死过程中的心肌损伤。

心肌肌钙蛋白包含三个亚基, 分别为心肌肌钙蛋白 I (cTnI)、心肌肌钙蛋白 T (cTnT)、肌钙蛋白 C (TnC)。cTnI 和 cTnT 在血清中的浓度与心肌损伤的严重程度高度相关。肌钙蛋白通常以三元复合物 (cTnITC) 的形式与肌动蛋白丝结合。在心肌损伤时, 肌钙蛋白从肌丝中降解下来, 释放到血液中。在细胞内或血液循环中, cTnITC 被蛋白酶降解为不同形式。研究表明, 肌钙蛋白在血液中的存在形式可能与个体的生理、病理状态相关联。

深入理解肌钙蛋白不同形式与疾病的关联, 正确解读 cTn 升高的原因、区分急性与非急性的心肌损伤, 对胸痛患者的快速分层和准确临床诊断至关重要。

#### 发明内容

为了解决上述技术问题, 在第一个方面, 本申请提供一种在体外评估受试者心肌损伤的方法, 包括:

检测来自所述受试者的样品中一种或多种心肌损伤标志物的含量；  
基于所述一种或多种心肌损伤标志物的含量，获得用于评估心肌损伤的特征参数；  
将所述特征参数与所述特征参数的参考值进行比较；  
基于所述比较的结果，对受试者心肌损伤进行评估；

5 其中，所述一种或多种心肌损伤标志物包括大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物(**large-size cardiac troponin ternary complex, large-size cTnITC, large-size ITC complex**) 和/或总心肌肌钙蛋白三元复合物 (**Total cardiac troponin ternary complex, total cTnITC, total ITC complex**)。大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物，也可以称为长心肌肌钙蛋白三元复合物 (**long cardiac troponin ternary complex, long cTnITC, long ITC complex**)。

10 在第二个方面，本申请提供一种获取用于评估受试者心肌损伤的特征参数的装置，包括：

数据接收模块，被配置用于接收从来自受试者的样品中获取的一种或多种心肌损伤标志物的含量，所述一种或多种心肌损伤标志物包括大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物和/或总心肌肌钙蛋白三元复合物；

15 数据处理模块，被配置用于处理接收模块接收到的一种或多种心肌损伤标志物的含量数据，获得用于评估心肌损伤的特征参数；

以及，输出模块，被配置用于输出所述特征参数。

在第三个方面，本申请提供一种样本分析系统，包括：

样本承载部，用于承载装有受试者的样品的容器；

20 样本分注部，用于从样本承载部吸取受试者的样品并将其排放到待加样的反应杯中；

试剂承载部，用于承载检测试剂；

试剂分注部，用于从试剂承载部吸取检测试剂并将其排放到待加试剂的反应杯中；

反应部，用于放置反应杯，以便孵育反应杯中的由受试者的样品与检测试剂反应得到的试液；

25 检测部，具有信号检测器，用于检测反应杯中的试液的信号，以测定和输出受试者的样品中的一种或多种心肌损伤标志物的含量，所述一种或多种心肌损伤标志物包括大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物和/或总心肌肌钙蛋白三元复合物；

数据处理部，包括处理器和计算机可读存储介质，在计算机可读存储介质上存储有计算机可读指令，其特征在于，所述计算机可读指令在被处理器执行时引起所述处理器实施

30 如下步骤：

接收并处理所述一种或多种心肌损伤标志物的含量，以获得用于评估心肌损伤的特征

参数；以及

输出所述特征参数。

在第四个方面，本申请提供用于样品中大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物定量检测的试剂和/或总心肌肌钙蛋白三元复合物定量检测的试剂在制备试剂盒中的用途，其中所述试剂盒用于评估受试者心肌损伤。

在第五个方面，本申请提供用于样品中大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物定量检测的试剂和/或总心肌肌钙蛋白三元复合物定量检测的试剂，用于评估受试者心肌损伤。

在本申请各方面中，基于大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物和/或总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量获得的特征参数能够用于更快、更准确地评估心肌损伤。

10

附图说明

此处所说明的附图用来提供对本发明的进一步理解，构成本申请的一部分，本发明的示意性实施例及其说明用于解释本发明，并不构成对本发明的不当限定。在附图中：

图 1 为本申请实施例提供的一种获取用于评估受试者心肌损伤的特征参数的装置的示意性框图。

图 2 示出本申请实施例提供的一种样本分析系统的示意图。

图 3 为对大尺寸 cTnITC 检测试剂盒信噪比分析，各组样本信噪比数据从左至右依次对应试剂盒 1~试剂盒 8。

图 4 为对总 cTnITC 检测试剂盒信噪比分析，各组样本信噪比数据从左至右依次对应试剂盒 1~试剂盒 12。

图 5 为用血清样本验证大尺寸 cTnITC 检测试剂盒的特异性。

图 6 为用血清样本验证总 cTnITC 检测试剂盒的特异性。

图 7 为对大尺寸 cTnITC 检测试剂盒 3 的线性分析。

图 8 为对大尺寸 cTnITC 检测试剂盒 4 的线性分析。

图 9 为对总 cTnITC 检测试剂盒 3 的线性分析。

图 10 为对总 cTnITC 检测试剂盒 4 的线性分析。

图 11 为早期心肌梗死患者入组及测试流程。

图 12 为不同胸痛持续时间患者中的大尺寸 cTnITC/总复合物、总 cTnITC/总复合物、cTnT/总复合物的比例。各组之间的  $P$  值使用 Kruskal-Wallis 检验进行比较。 $*P<0.05$ ,

$**P<0.01$ ,  $***P<0.001$ ,  $****P<0.0001$ , ns, 无显著性差异。

图 13 为 1 型心肌梗死和 2 型心肌梗死患者中的大尺寸 cTnITC/总复合物、总 cTnITC/

总复合物、cTnT/总复合物、大尺寸 cTnITC/cTnT、总 cTnITC/cTnT 的比例。1 型心肌梗死和 2 型心肌梗死之间的 P 值使用 Mann-Whitney U 检验进行比较。 $*P<0.05$ ， $**P<0.01$ ，ns，无显著性差异。

图 14 为实施例 3-1 中急性心肌梗死（1 型）患者入组及测试流程。

5 图 15 为实施例 3-1 中慢性心脏事件（心肌病或慢性心力衰竭）患者入组及测试流程。

图 16 为实施例 3-1 中慢性心脏事件（肺炎）患者入组及测试流程。

图 17 为急性心肌梗死（1 型）与慢性心脏事件样本中的大尺寸 cTnITC/总复合物、总 cTnITC/总复合物、cTnT/总复合物、大尺寸 cTnITC/cTnT、总 cTnITC/cTnT 的比例。数值显示为中值±四分位距。急性心肌梗死（1 型）、心肌病或慢性心力衰竭、肺炎患者之间的

10 的 P 值使用 Kruskal-Wallis 检验进行比较。 $**P<0.01$ ， $***P<0.001$ ， $****P<0.0001$ ，ns，无显著性差异。

图 18 为有创操作患者入组及测试流程。

图 19 为慢性心脏事件患者入组及测试流程。

15 图 20 为有创治疗导致心肌损伤患者与慢性心脏事件患者中的大尺寸 cTnITC/总复合物、总 cTnITC/总复合物、cTnT/总复合物、大尺寸 cTnITC/cTnT、总 cTnITC/cTnT 的比例。数值显示为中值±四分位距。慢性心脏事件患者、外科手术患者、介入手术患者之间的 P 值使用 Kruskal-Wallis 检验进行比较。 $**P<0.01$ ， $***P<0.001$ ， $****P<0.0001$ ，ns，无显著性差异。

图 21 为心脏外科手术的入组及测试流程。

20 图 22 为不同肌钙蛋白片段浓度组的的心脏外科手术患者生存曲线。

图 23 为急性心肌梗死（1 型）患者入组及测试流程。

图 24 为不同肌钙蛋白片段浓度组的急性心肌梗死（1 型）患者生存曲线。

图 25 为慢性心脏事件（心肌病或慢性心力衰竭）患者入组及测试流程。

25 图 26 为不同肌钙蛋白片段浓度组的慢性心脏事件（心肌病或慢性心力衰竭）患者生存曲线。

图 27 为疑似冠脉综合症的急性胸痛患者入组及测试流程。

下面将结合附图，对实施例中的技术方案进行清楚、完整地描述，显然，所描述的实施例仅仅是本发明的一部分实施例，而不是全部。以下对实施例的描述仅仅是说明性的，  
30 绝不作为对本发明的任何限制。基于实施例，本领域普通技术人员在没有作出创造性劳动

前提下所获得的所有其他实施例，都在本发明的保护范围内。

在本文中，除非另有说明，否则所使用的科学和技术名词具有本领域技术人员所通常理解的含义。并且，本文中所用的免疫学实验室操作步骤均为相应领域内广泛使用的常规步骤。同时，为了更好地理解本发明的实施方案，下面提供相关术语的定义和解释。

- 5 如本文中所使用的，术语“包括”、“包含”或者其任何其他变体意在涵盖非排他性的包含，从而使得包括一系列要素的方法或者装置不仅包括所明确记载的要素，而且还包括没有明确列出的其他要素，或者是还包括为实施方法或者装置所固有的要素。在没有更多限制的情况下，由语句“包括一个……”限定的要素，并不排除在包括该要素的方法或者装置中还存在另外的相关要素。
- 10 如本文中所使用的，术语“至少一个”意指在合理条件下的 1 个或超过 1 个，例如 2 个、3 个、4 个、5 个或 10 个等。
- 如本文中所使用的，术语“第一”、“第二”仅仅是区别类似的对象，不代表针对对象的特定排序，可以理解地，“第一”、“第二”在允许的情况下可以互换特定的顺序或先后次序。应该理解“第一”、“第二”区分的对象在适当情况下可以互换，以使这里描述的本申请实施例能够以除了在这里图示或描述的那些以外的顺序实施。
- 15 如本文中所使用的，术语“个体”、“受试者”优选为哺乳动物。哺乳动物包括，但不限于，家养动物(例如，牛、绵羊、猫、狗和马)，灵长类动物(例如，人和非人灵长类动物诸如猴)，兔和啮齿类动物(例如，小鼠和大鼠)，优选人。在一些实施方案中，特指具有特定临床症状的患者，例如胸痛患者。
- 20 如本文中所使用的，术语“特异性结合”是指，两分子（即结合分子与靶分子）之间的非随机的结合反应，如抗体和其所针对的抗原之间的反应。两分子之间的结合亲和力可用  $K_D$  值描述。 $K_D$  值是指由  $k_d$ （特定的结合分子-靶分子相互作用的解离速率；亦称为  $k_{off}$ ）与  $k_a$ （特定结合分子-靶分子相互作用的缔合速率；亦称为  $k_{on}$ ）之比得到的解离常数，或者指表示为摩尔浓度 (M) 的  $k_d/k_a$ 。 $K_D$  值越小，两分子结合越紧密，亲和力越高。在某些实施方式中，特异性结合某抗原的抗体(或对某抗原具有特异性的抗体)是指，抗体以小于大约  $10^{-5}$  M，例如小于大约  $10^{-6}$  M、 $10^{-7}$  M、 $10^{-8}$  M、 $10^{-9}$  M 或  $10^{-10}$  M 或更小的  $K_D$  结合该抗原。用于分析抗体特异性的相应方法在例如以下文献中有描述：**Harlow&Lane(1988) Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press** 以及 **Harlow& Lane(1999)Using Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press**。
- 25 适用研究的非限制性实例是，例如采用结构上和/或功能上密切相关的分子进行的结合研究、阻断和竞争研究。这些研究可采用以下方法进行，例如荧光激活细胞分选术 (FACS)分析、
- 30

流式细胞术滴定(FACS 滴定)分析、表面等离子体共振技术(SPR, 例如使用)、等温滴定量热法(ITC)、荧光滴定法或放射性标记的配体结合测定法。更多的方法包括, 例如免疫印迹法(Western Blot)、ELISA(包括竞争 ELISA)测试、RIA 测试、ECL 测试和 IRMA 测试。

如本文中所使用的, 术语“诊断”是指方法, 通过该方法, 可以估计和/或确定, 患者是  
5 否患有特定的疾病或者状态。

如本文中所使用的, 术语“预后”通常是通过一个或多个标志物或特征参数被确定的。这些标志物或特征参数的显示了特定的后果或者过程会发生的概率。

如本文中所使用的, 术语“样品”、“样本”为受试者体液或组织样品, 例如全血、血清、血浆(包括肝素锂血浆、EDTA 血浆)、尿液、唾液、生物组织或细胞, 优选全血、血清或  
10 血浆。

如本文中所使用的, 术语“肌钙蛋白”、“Tn”是肌细胞内肌纤蛋白上的一种调节钙介导的肌动蛋白和肌球蛋白之间相互反应的蛋白, 存在于心肌和骨骼肌中, 由肌钙蛋白 T (TnT)、肌钙蛋白 I (TnI) 和肌钙蛋白 C (TnC) 三种亚单位组成。其中 TnT 是原肌球蛋白结合亚单位, 与肌动蛋白及原肌球蛋白互相作用; TnI 是抑制亚单位, 抑制肌动球蛋白的 ATP 酶活性; TnC 是唯一与钙结合的亚单位, 可使骨骼肌或心肌收缩。术语“心肌肌钙蛋白”、“cTn”指心脏细胞, 优选心内膜下细胞, 中表达的所有肌钙蛋白同种型。这些同种型在本领域中已被充分表征, 例如 Anderson 1995, *Circulation Research*, vol. 76, no. 4: 681-686 和 Ferrieres 1998, *Clinical Chemistry*, 44: 487-493 中所述。术语“心肌肌钙蛋白”还包括特定心肌肌钙蛋白的变体, 此类变体至少具有与该特定心肌肌钙蛋白相同的基础生物学和免疫学特性。特别地, 如果它们通过本文提及的相同特异性检测, 则它们共享相同的基础生物学和免疫学特性。应当理解, 肌钙蛋白的同种型可以被一同(同时或序贯)测定或单独(即完全不测定其它同种型)测定。  
15  
20

如本文中所使用的, 术语“心肌肌钙蛋白 T”、“cTnT”指心肌肌钙蛋白 T 亚单位, 其氨基酸序列公开于 UniProt 数据库, 编号 P45379。

如本文中所使用的, 术语“心肌肌钙蛋白 I”、“cTnI”指心肌肌钙蛋白 I 亚单位, 其氨基酸序列公开于 UniProt 数据库, 编号 P19429。  
25

如本文中所使用的, 术语“肌钙蛋白 C”、“TnC”指肌钙蛋白 C 亚单位, 其氨基酸序列公开于 UniProt 数据库, 编号 P63316。

如本文中所使用的, 术语“心肌肌钙蛋白二元复合物”包括肌钙蛋白 C 的全长蛋白或其任意氨基酸片段和心肌肌钙蛋白 I 的全长蛋白或其任意氨基酸片段组成的二元复合物。  
30

如本文中所使用的, 术语“大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物 (large-size cardiac

troponin) ”或“大尺寸 cTnITC (large-size cTnITC, large-size ITC complex) ”在本文中可互换使用, 意欲包括任意的 TnC 的全长蛋白或片段、cTnI 的全长蛋白或片段、cTnT 的氨基酸残基 223-287 中的一段或多段和 cTnT 的氨基酸残基 1-222 中的一段或多段所形成的复合物。

5 如本文中所使用的, 术语“总心肌肌钙蛋白三元复合物 (total cardiac troponin ternary complex) ”或“总 cTnITC (total cTnITC, total ITC complex) ”在本文中可互换使用, 意欲包括所有 TnC 的全长蛋白或片段、cTnI 的全长蛋白或片段和 cTnT 的氨基酸残基 223-287 中的一段或多段, 以及任选的 cTnT 的氨基酸残基 1-222 中的一段或多段所形成的复合物。

10 如本文中所使用的, 术语“总心肌肌钙蛋白复合物”、“总复合物”包括所述总心肌肌钙蛋白三元复合物、肌钙蛋白 C 的全长蛋白或其任意氨基酸片段和心肌肌钙蛋白 I 的全长蛋白或其任意氨基酸片段组成的二元复合物。

#### 区分性评估和诊断方法

15 心肌肌钙蛋白是高度特异性和敏感性心肌损伤生物标志物, 被广泛应用于检测心肌梗死后或心肌梗死过程中的心肌损伤。但是目前肌钙蛋白分析无法区分不同类型的心肌损伤, 本领域仍缺少有效手段以评估心肌损伤、区分不同心肌损伤类型、辅助临床医生对个体病理状态快速精准诊断, 进而指导预后。

本申请第一个方面提供一种在体外评估受试者心肌损伤的方法, 包括:

检测来自所述受试者的样品中一种或多种心肌损伤标志物的含量;

20 基于所述一种或多种心肌损伤标志物的含量, 获得用于评估心肌损伤的特征参数;

将所述特征参数与所述特征参数的参考值进行比较;

基于所述比较的结果, 对受试者心肌损伤进行评估;

其中, 所述一种或多种心肌损伤标志物包括大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物和/或总心肌肌钙蛋白三元复合物。

25 术语“心肌损伤”为本领域已知, 是指心脏细胞发生病理改变, 从而引起心脏异常表现, 患者可能会出现胸痛、心慌、气短、心悸等症状。cTn 高于 99<sup>th</sup>URL 诊断为心肌损伤, 如果伴随着上升或下降考虑为急性心肌损伤; 如果持续升高状态, 且增幅变化<20%则可能为慢性心肌损伤。心肌损伤可见于多种心脏和非心脏疾病。

30 在本文中, 评估心肌损伤包括对心肌损伤进行诊断(例如病因或分型的诊断)、分级(例如对心肌损伤严重程度或所处阶段进行分级)或监测(例如预后)等。

区分性评估或诊断是指基于个体中可观察到的特征性的性质和潜在疾病的特征性的性



质比较，诊断在该特定个体中的具体疾病和/或具体状态的方法，所述疾病和状态是特定个体的症状的基础。取决于在区分性评估或诊断中必须被考虑的疾病和状态的范围，医生必须施用的实验分析的种类和数量可以是非常多的。例如，在胸痛的情形下，医生可以选用下列实验分析，包括体格检查、超声心动图、心电图记录、高敏肌钙蛋白 I 检测、高敏肌钙蛋白 T 检测和冠状动脉造影等。然而，医生必须整合，从一套实验获得的信息，得出最接近地代表症状的范围和/或来自对象的诊断实验结果的临床诊断。

本申请描述了可用于或辅助用于心肌损伤评估的标志物和特征参数。通过检测样品中一种或多种心肌损伤标志物的含量，并进一步获得用于评估心肌损伤的特征参数，将该特征参数的值同遭受特定状态，或者处于特定状态风险中的个体中该特征参数的值相比较，或者与已知未遭受特定状态的个体中该特征参数的值相比较。这样的比较结果被联系于一个评估或诊断，从而做出反应。

#### 心肌损伤标志物和特征参数

在本申请中，用于评估心肌损伤的标志物至少包括大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物和/或总心肌肌钙蛋白三元复合物。基于应用的诊断场景，所述标志物可进一步包括 cTnI、cTnT、TnC、心肌肌钙蛋白二元复合物和总心肌肌钙蛋白复合物中的一种或多种。

标志物的含量特别优选为浓度，可以利用免疫测定法来确定。此类免疫测定法的实例是酶联免疫吸附测定法(ELISA)、酶免疫测定法(EIA)、放射免疫测定法(RIA)或基于发光、荧光、化学发光或电化学发光的免疫测定法。在一些实施方案中，各标志物的定量检测特别优选采用 ELISA 方法进行，例如采用市售 ELISA 试剂盒进行检测。

#### 和参考值的比较

“比较”是指将获自受试者的特征参数与其参考值进行比较。应当理解，本文所使用的比较通常是指相应特征参数的值的比较。所述比较可以人工地或计算机辅助执行。因此，比较可以通过计算机装置（例如本文公开的装置或分析系统）进行实施。特征参数和参考值可以例如与各自比较且所述比较可以通过执行用于比较的算法的计算机程序自动实施。实施所述评价的计算机程序将以合适的输出形式提供期望的评估。对于计算机辅助的比较，特征参数可以与对应于合适参考值的比较，所述参考值通过计算机程序储存于数据库中。计算机程序可以进一步评价比较结果，即以合适的输出形式自动提供期望的评估。

参考值可以用于定义和建立阈值。阈值优选地，用于如本文所述评估/诊断受试者。所述诊断或评估可以通过本文所述装置或系统的数据处理模块基于计算的“值”与参考值或阈值提供。例如，系统的数据处理模块可以以文字、符号或数值的形式提供指示物，其指示了诊断或评估。适用于受试者的参考值可以变化，这取决于所选用的标志物及其测定方法。

合适的参考值可以从待分析的参考样品连同测试样品一起（即同时或依次地）确定。

原则上，可通过应用标准统计学方法，基于特定标志物的平均值或中间值，计算患有特定疾病或至少一种异常或未患有上述疾病或异常的患者群组的参考水平。在一些实施方案中，使用 Graphpad Prism、SPSS 及 Excel 软件进行统计分析。不同亚组间的统计学差异通过 Mann-Whitney U 检验（用于两组之间的比较）和 Kruskal-Wallis 检验（用于多组之间的比较）进行分析以确定统计学意义。P 值<0.05 认为该变量具有显著性。

5 具体而言，测试的方法（诸如针对诊断事件）的准确性与否，优选通过 ROC（receiver operator characteristic curve）进行描述（可参考 Zweig 1993, Clin. Chem. 39: 561-577）。ROC 曲线是根据一系列不同的二分类方式(分界阈值)，以真阳性率（TPR）为纵坐标，假阳性率（FPR）为横坐标绘制的曲线，ROC\_AUC(area under the curve)代表 ROC 曲线与水平坐标轴围成的面积。在一些实施方案中，使用 SPSS 软件作 ROC 曲线，得到曲线下面积 AUC。在 ROC 曲线上可以通过调整阈值来得到不同的 TPR 和 FPR。阈值越大，FPR 越小，TPR 越大，反之，FPR 越大，TPR 越小。约登指数（Youden's J statistic）是一个评估分类器性能的统计量，它等于 TPR - FPR,也就是灵敏度。它的值越大，分类器的性能越好。在 ROC 曲线上，Youden's J statistic 取最大值的点称为约登点，它对应的阈值称为约登阈值。在一些实施方案中，将约登阈值作为最佳阈值点（CUTOFF 值）。

10 取决于期望的置信区间，阈值可以来源于 ROC 曲线，其允许分别使用灵敏性和特异性的合适的平衡诊断或预测给定事件。因此，用于本发明的参考值可以优选地是阈值或 CUTOFF 值,且可以优选地如上文所述通过对所述群建立 ROC 且从中衍生阈值量而生成。

20 取决于对诊断方法的期望的灵敏性和特异性，ROC 图允许衍生合适的阈值。

诊断方法的有效性、标志物参数对主要终点事件的预测价值由受试者工作特征（ROC）曲线描述，ROC曲线根据连续改变所观测数据范围内的判定阈值得到的灵敏度和特异性进行绘制，其Y轴为灵敏度，X轴为1-特异性，曲线越接近于左上角，诊断精度越高。通过受试者工作曲线下面积（AUC）指示诊断的有效性或正确性。显著性检验P值<0.05认为该变量具有显著性。由于ROC曲线是由多个代表各自灵敏度和特异度的临界值构成的，可以借助ROC曲线选择出某一诊断方法最佳的诊断界限值。ROC曲线越是靠近左上角，试验灵敏度越高，误判率越低，则诊断方法的性能越好。可知ROC曲线上最靠近左上角的ROC曲线上的点，其灵敏度和特异度之和最大，这个点或是其邻近点对应的值常被用作诊断参考值（也称为诊断阈值或判断阈值或预设条件或预设范围）。

30 在一个实施方案中，术语“参考值”可以是预定值。如技术人员将理解，参考值是预定

且设置在例如特异性和/或灵敏性方面符合常规要求。这些要求可以例如在管理部门间变化。其可以例如测定灵敏性或特异性分别必须设置在某些限值，例如分别为 80%、90%、95% 或 98%。这些要求还可以在阳性或阴性预测值方面进行限定。尽管如此，基于本发明的教导，达到满足这些要求的参考值是容易做到的。所述参考值源自患有如本文所提及的疾病或异常，或患有其重度或轻度形式的患者。

5 在一些实施方案中，参考值已经在受试者所患疾病的参考样品中预先确定。在一些实施方案中，参考值可以例如被设置为该特征参数在所研究的疾病中总体分布的 25% 和 75% 之间的任何百分比。在另一些实施方案中，参考值可以例如被设置为，根据所研究的疾病参考样本总体分布所确定的，中位数、三分位数或四分位数。在 10 一些实施方案中，参考值可以被设置为从所研究的疾病中该特征参数的总体分布确定的中值。在 15 一些实施方案中，连续变量呈现为中值（25-75% 四分位）；分类变量呈现为数字（百分比）表示。

在本申请中，用于评估心肌损伤的特征参数可以选自大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物的含量、总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量、以及大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物的含量和/或总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量与其它心肌损伤标志物（例如，cTnI、cTnT 或总 15 心肌肌钙蛋白复合物）的含量的组合。

在一些实施方案中，基于所检测的标志物的含量，获得用于评估心肌损伤的特征参数，包括：

将所述大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物或总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量确定为用于评估心肌损伤的特征参数；或者

20 基于所述大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物的含量和所述总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量获取用于评估心肌损伤的特征参数；

例如基于事件前后所述大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物或总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量变化（包括差值和比值）确定为用于评估心肌损伤的特征参数。

25 在一些实施方案中，所述一种或多种心肌损伤标志物优选进一步包括 cTnI、cTnT 和总心肌肌钙蛋白复合物中的至少一个。

30 在一些实施方案中，基于所述一种或多种心肌损伤标志物的含量，获得用于评估心肌损伤的特征参数，包括：将所述多种心肌损伤标志物的含量输入预设函数模型，以得到所述预设函数模型的输出作为用于评估心肌损伤的特征参数。所述输入预设函数模型例如可以为线性函数模型、非线性函数模型或者机器学习模型。在一些实施方案中，使用二元逻辑回归模型构建变量的组合，用于建立组合参数。在一些实施方案中，二分类 Logistic 回归分析，用于分析标志物参数与主要终点事件发生的相关性。P 值 < 0.05 认为该变量具有显

著性。Cox 回归分析用于确定标志物参数或它们的组合与研究受试者结局的关系，根据 Cox 比例风险模型计算风险比(HR)，用于分析标志物参数值不同风险组的风险水平，相比基准组发生终点事件的风险的倍数。P 值<0.05 认为该变量具有显著性。

5 在一个示例中，可以直接将多种心肌损伤标志物的含量作为变量输入预设函数模型，例如将大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物或总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量和 cTnI、cTnT 和总心肌肌钙蛋白复合物中的至少一个的含量作为变量输入预设函数模型，以得到所述预设函数模型的输出作为用于评估心肌损伤的特征参数。

10 在另一个示例中，也可以将多种心肌损伤标志物的含量之间的比例作为变量输入预设函数模型，例如将大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物和/或总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量与 cTnI、cTnT 和总心肌肌钙蛋白复合物中的至少一个的含量的比例作为变量输入预设函数模型，以得到所述预设函数模型的输出作为用于评估心肌损伤的特征参数。

在本文中，当描述某一心肌损伤标志物含量与另一心肌损伤标志物含量的比例时，包括所述心肌损伤标志物含量比所述另一心肌损伤标志物含量，以及所述另一心肌损伤标志物含量比所述心肌损伤标志物含量。

15 在一些实施方案中，所述特征参数通过多个种心肌损伤标志物的含量之间的比例来获得，即，基于所述一种或多种心肌损伤标志物的含量，获得用于评估心肌损伤的特征参数，包括：将下列比例参数之一确定为用于评估心肌损伤的特征参数，或者基于下列比例参数中的至少两个参数来获得用于评估心肌损伤的特征参数，或者基于下列比例参数中的至少一个参数和 cTnT 的含量与总心肌肌钙蛋白复合物的含量的比例来获得用于评估心肌损伤的特征参数；

20 所述比例参数包括：大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物的含量与 cTnI 的含量的比例、大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物的含量与 cTnT 的含量的比例、大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物的含量与总心肌肌钙蛋白复合物的含量的比例、总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量与 cTnI 的含量的比例、总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量与 cTnT 的含量的比例、总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量与总心肌肌钙蛋白复合物的含量的比例以及大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物的含量与总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量的比例。

25 在一些实施方案中，所述比例参数为大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物的含量与 cTnI、cTnT 或总心肌肌钙蛋白复合物的含量的比例；任选地，所述比例参数进一步包括总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量与 cTnI、cTnT 或总心肌肌钙蛋白复合物的含量的比例，和/或 cTnT 的含量与 cTnI 或总心肌肌钙蛋白复合物的含量的比例。

30 例如，可以将大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物或总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量与

cTnI、cTnT 和总心肌肌钙蛋白复合物中的一个的含量的比例确定为用于评估心肌损伤的特征参数。

基于以上信息，本申请可用于心肌损伤的评估。

大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物或总心肌肌钙蛋白三元复合物，用于心肌损伤的诊断。

5 具体可以用于以下临床场景。

(1) 诊断早期急性心肌梗死疾病状态（心肌梗死患者的分期）

关于肌钙蛋白复合物组成在急性心肌梗死患者中的存在形式，已有文献报道发现，三元复合物在心肌梗死症状发作早期的患者中，浓度更高，所占总肌钙蛋白 I 的比例较大。但目前仍无相关研究将对大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物或总心肌肌钙蛋白三元复合物的分析用于辅助心肌梗死的诊断。大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物或总心肌肌钙蛋白三元复合物能够单独地或者与其他临床心肌损伤指标联合地为心肌梗死的急性期判断提供信息，快速识别高危患者，帮助临床决策的定制。

15 在本文中，用于诊断早期急性心肌梗死的标志物包括大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物和/或总心肌肌钙蛋白三元复合物，以及 cTnI、cTnT、TnC、心肌肌钙蛋白二元复合物和总心肌肌钙蛋白复合物中的一种或多种。

在一些实施方案中，用于诊断早期急性心肌梗死的标志物包括大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物、或其与 cTnI、cTnT 或总心肌肌钙蛋白复合物的组合。

20 在一些实施方案中，用于诊断早期急性心肌梗死的标志物包括大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物和/或总心肌肌钙蛋白三元复合物、及其与 cTnI、cTnT、TnC、心肌肌钙蛋白二元复合物和总心肌肌钙蛋白复合物中的一种或多种，特别是大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物和/或总心肌肌钙蛋白三元复合物、与 cTnT 和总心肌肌钙蛋白复合物中的一种或两种。

在一些实施方案中，基于所述一种或多种心肌损伤标志物的含量，获得用于评估心肌损伤的特征参数，包括：

25 将所述大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物的含量确定为用于评估心肌损伤的特征参数；或者

基于所述大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物的含量以及 cTnI、cTnT、总心肌肌钙蛋白三元复合物和总心肌肌钙蛋白复合物中的至少一个的含量获得用于评估心肌损伤的特征参数，优选基于所述总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量与 cTnT 的含量计算用于评估心肌损伤的特征参数；

30 基于所述大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物的含量或所述总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量与 cTnI、cTnT 和总心肌肌钙蛋白复合物中的至少一个的含量的比例，以及任选地

cTnT 的含量与 cTnI 或总心肌肌钙蛋白复合物的含量的比例获得用于评估心肌损伤的特征参数，例如将所述大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物的含量或所述总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量与 cTnT 的含量的比例确定为用于评估心肌损伤的特征参数。

5 在一些实施方案中，基于逻辑回归算法，构建基于多种心肌损伤标志物组合的特征参数。例如大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物的含量与总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量、cTnT 的含量或总心肌肌钙蛋白复合物的含量的组合，或大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物的含量、总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量、cTnT 的含量和总心肌肌钙蛋白复合物的含量的组合；再例如大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物的含量与总心肌肌钙蛋白复合物的含量的比例、总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量与总心肌肌钙蛋白复合物的含量的比例、和 cTnT 10 的含量与总心肌肌钙蛋白复合物的含量的比例的组合，或大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物的含量与 cTnT 的含量的比例、和总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量与 cTnT 的含量的比例的组合。

在一些实施方案中，制作 ROC 曲线建立所述特征参数的预测模型，并计算最佳阈值 (cutoff) 作为参考值。

15 在一些实施方案中，基于前述比较的结果，对受试者心肌损伤进行评估，包括：基于所述比较的结果，对受试者进行心肌梗死分期。

在一些实施方案中，当所述特征参数高于该特征参数的参考值时，判断所述受试者处于急性心肌梗死早期，例如胸痛发作时间 72 小时内，30 小时~72 小时，10 小时~30 小时，10 小时~72 小时，或 10 小时内的心肌梗死。

20 在一个实施方案中，还包括，将判断为处于急性心肌梗死早期的受试者收治入院。

术语“高于”参考值是指样品中这种参数的水平与参考值或参考样品中这种参数的水平相比更高。例如，与在未患有给定疾病的个体的相同样品中相比，在患有所述疾病的一个个体的样品中可检出更高量的标志物、或标志物水平升高。

## (2) 区分急性心肌梗死 (I 型) 与慢性心脏事件

25 目前的肌钙蛋白 I 和肌钙蛋白 T 是心肌损伤的特异性标志物，当心肌损伤出现，标志物水平上升，而无法实现对急性损伤和慢性损伤的区分。为了识别急性的心肌损伤，通常需要连续监测肌钙蛋白的浓度变化情况，难以通过单一测试判断，可能导致诊断推迟，延误治疗。

30 在本文中，“急性心脏事件”是指心脏的急性病状、疾病或功能失常，特别是急性心力衰竭，例如心肌梗塞 (MI) 或心律失常。根据 MI 的程度，它可以随后为 LVD 和 CHF。“慢性心脏事件”是心功能的减弱，例如由于心脏的缺血、冠状动脉疾病或先前特别是小的

心肌梗塞（可能随后为进行性 LVD）。它还可以是由于炎性疾病、心脏瓣膜缺损（例如，二尖瓣缺损）、扩张性心肌病、肥厚性心肌病、心节律缺陷（心律失常）和慢性阻塞性肺病而引起的减弱。因此，很明显慢性心脏事件还可以包括这样的患者，其已患有急性冠状动脉综合征例如 MI，但目前未遭受急性心脏事件。

5 区分急性心脏事件和慢性心脏事件是重要的，因为急性心脏事件和慢性心脏事件可能需要完全不同的治疗方案。例如，对于出现急性心肌梗死的患者，对于再灌注的早期治疗可能至关重要。然而，对患有慢性心力衰竭的患者进行再灌注处理充其量对这个患者无害或仅具有小的伤害。

10 在本文中，用于区分急性心肌梗死和慢性心脏事件的标志物包括大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物和/或总心肌肌钙蛋白三元复合物，以及 cTnI、cTnT、TnC、心肌肌钙蛋白二元复合物和总心肌肌钙蛋白复合物中的一种或多种。

在一些实施方案中，用于区分急性心肌梗死和慢性心脏事件的标志物包括大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物或总心肌肌钙蛋白三元复合物、或大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物与 cTnT 的组合。

15 在一些实施方案中，用于区分急性心肌梗死和慢性心脏事件的标志物包括大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物与总心肌肌钙蛋白三元复合物、cTnT 和总心肌肌钙蛋白复合物中的一种或多种的组合。

在一些实施方案中，基于所述一种或多种心肌损伤标志物的含量，获得用于评估心肌损伤的特征参数，包括：

20 将所述大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物的含量或所述总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量确定为用于评估心肌损伤的特征参数；或者

基于所述大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物的含量和所述总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量计算用于评估心肌损伤的特征参数；或者

25 基于所述大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物的含量或所述总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量与 cTnT 或总心肌肌钙蛋白复合物的含量获得用于评估心肌损伤的特征参数。

在一个实施方案中，基于所述大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物的含量或所述总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量与 cTnI、cTnT 和总心肌肌钙蛋白复合物中的至少一个的含量的比例，以及任选地 cTnT 的含量与 cTnI 或总心肌肌钙蛋白复合物的含量的比例获得用于评估心肌损伤的特征参数。

30 在一个示例中，可以直接使用所述大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物的含量或所述总心

肌肌钙蛋白三元复合物的含量和 cTnT 或总心肌肌钙蛋白复合物的含量作为变量计算用于评估心肌损伤的特征参数。

5 在另一个示例中，可以使用所述大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物的含量和/或所述总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量与 cTnT 或总心肌肌钙蛋白复合物的含量的比例作为变量来计算用于评估心肌损伤的特征参数。

10 在一些实施方案中，基于逻辑回归算法，构建基于多种心肌损伤标志物组合的特征参数。例如大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物的含量与总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量、cTnT 的含量或总心肌肌钙蛋白复合物的含量的组合，或大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物的含量、总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量、cTnT 的含量和总心肌肌钙蛋白复合物的含量的组合；再例如大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物的含量与总心肌肌钙蛋白复合物的含量的比例、总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量与总心肌肌钙蛋白复合物的含量的比例、和 cTnT 的含量与总心肌肌钙蛋白复合物的含量的比例的组合，或大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物的含量与 cTnT 的含量的比例、和总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量与 cTnT 的含量的比例的组合。

15 在一些实施方案中，制作 ROC 曲线建立所述特征参数的预测模型，并计算最佳阈值（cutoff）作为参考值。

在一些实施方案中，进行前述比较，并基于比较的结果，对受试者心肌损伤进行评估，包括：

基于所述比较的结果，判断所述受试者发生 I 型心肌梗死还是慢性心脏事件。

20 在一些实施方案中，当所述特征参数高于该特征参数的参考值时，判断所述受试者发生 I 型心肌梗死。

在一些实施方案中，还包括，将判断为发生 I 型心肌梗死的受试者收治入院。

25 使用大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物和/或总心肌肌钙蛋白三元复合物能够通过单一时间点测试更快速地区分心肌损伤的类型，加快急性损伤患者的治疗，快速排除慢性损伤患者，加快临床周转。

### (3) 排除未发生心肌损伤

30 目前研究集中于用肌钙蛋白 I 和肌钙蛋白 T 连续监测来排除患者未发生心肌损伤。对于胸痛时间小于 3 小时的患者，即使肌钙蛋白水平很低，也需要连续监测肌钙蛋白浓度变化。使用大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物和/或总心肌肌钙蛋白三元复合物能够通过单点测试排除未发生心肌损伤患者，例如胸痛发作时间在 24 小时内，例如 12 小时内的患者，优



化诊断流程。

在本文中，用于排除胸痛受试者未发生心肌损伤的标志物包括大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物和/或总心肌肌钙蛋白三元复合物，以及 cTnI、cTnT、TnC、心肌肌钙蛋白二元复合物和总心肌肌钙蛋白复合物中的一种或多种；优选大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物。

5 基于前述方法获得用于区分的特征参数，并基于前述比较的结果，排除未发生心肌损伤（例如心肌梗死，特别是 NSTEMI）的患者。

在一些实施方案中，当所述特征参数低于该特征参数的参考值时，排除胸痛受试者发生心肌损伤事件。

在一些实施方案中，还包括通知被排除心肌损伤的患者离开急诊室。

10 在一些实施方案中，基于所述一种或多种心肌损伤标志物的含量，获得用于评估心肌损伤的特征参数，包括：

将所述大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物的含量或所述总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量确定为用于评估心肌损伤的特征参数；或者

15 基于所述大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物的含量或所述总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量与总心肌肌钙蛋白复合物的含量获得用于评估心肌损伤的特征参数。

在一些实施方案中，制作 ROC 曲线建立所述特征参数的预测模型，并计算最佳阈值（cutoff）作为参考值。

#### （4）区分 I 型和 II 型心肌梗死

20 I 型和 II 型心肌梗死的区分具有重要的意义，早期区分 I 型和 II 型心肌梗死能够为后续的治疗决策提供信息。目前 1 型和 2 型心肌梗死的区分主要通过影像学检查实现，没有标志物能够有效区分 I 型和 II 型心肌梗死。大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物和/或总心肌肌钙蛋白三元复合物能够快速区分 I 型和 II 型心肌梗死，支持临床决策的定制，减少不必要的医学检查。

25 在本文中，用于区分 I 型和 II 型心肌梗死的标志物包括大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物和/或总心肌肌钙蛋白三元复合物，以及 cTnI、cTnT、TnC、心肌肌钙蛋白二元复合物和总心肌肌钙蛋白复合物中的一种或多种。

基于前述方法获得用于区分的特征参数，并基于前述比较的结果，对受试者心肌损伤进行评估，判断受试者是发生 I 型心肌梗死还是 II 型心肌梗死。

30 在一些实施方案中，当所述特征参数高于该特征参数的参考值时，判断所述受试者发生 I 型心肌梗死。

在一些实施方案中，对判断为 I 型心肌梗死的受试者给与溶栓治疗，判断为 II 型心肌梗死的受试者不给与溶栓治疗，而给与受试者补充氧气。

(5) 区分有创操作导致心肌损伤与慢性心脏事件

5 目前的肌钙蛋白 I 和肌钙蛋白 T 是心肌损伤的特异性标志物，当心肌损伤出现，标志物水平上升，而无法实现对不同类型损伤的区分。为了识别有创操作导致的心肌损伤，通常需要连续监测肌钙蛋白的浓度变化情况。使用大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物和/或总心肌肌钙蛋白三元复合物能够通过单一时间点测试更快速地区分不同类型损伤。

10 在本文中，用于区分有创操作导致心肌损伤与慢性心脏事件的标志物包括大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物和/或总心肌肌钙蛋白三元复合物，以及 cTnI、cTnT、TnC、心肌肌钙蛋白二元复合物和总心肌肌钙蛋白复合物中的一种或多种。

在一些实施方案中，基于所述一种或多种心肌损伤标志物的含量，获得用于评估心肌损伤的特征参数，包括：

15 将所述大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物的含量或所述总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量确定为用于评估心肌损伤的特征参数。

在一些实施方案中，基于所述大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物的含量或所述总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量与 cTnI、cTnT 和总心肌肌钙蛋白复合物中的至少一个的含量的比例，以及任选地 cTnT 的含量与 cTnI 或总心肌肌钙蛋白复合物的含量的比例获得用于评估心肌损伤的特征参数。

20 在一些实施方案中，基于逻辑回归算法，构建基于多种心肌损伤标志物组合的特征参数。例如大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物的含量与总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量、cTnT 的含量或总心肌肌钙蛋白复合物的含量的组合，或大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物的含量、总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量、cTnT 的含量和总心肌肌钙蛋白复合物的含量的组合；再例如大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物的含量与总心肌肌钙蛋白复合物的含量的比例、总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量与总心肌肌钙蛋白复合物的含量的比例、和 cTnT 的含量与总心肌肌钙蛋白复合物的含量的比例的组合，或大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物的含量与 cTnT 的含量的比例、和总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量与 cTnT 的含量的比例的组合。

25 在一些实施方案中，制作 ROC 曲线建立所述特征参数的预测模型，并计算最佳阈值 (cutoff) 作为参考值。

30 在一些实施方案中，进行前文所述比较，并基于所述比较的结果对受试者心肌损伤进

行评估，判断所述受试者发生有创操作所致心肌损伤还是慢性心脏事件。

在一些实施方案中，当所述特征参数高于该特征参数的参考值时，判断所述受试者发生有创操作所致心肌损伤。

5 在一些实施方案中，对于判断为有创手术导致了心肌损伤的受试者，延长住院时间，或加强心脏监护。

在一些实施方案中，所述方法能够准确区分有创操作导致心肌损伤与慢性心脏相关疾病（例如，心肌病、慢性心力衰竭、结构性心脏病、浸润性疾病、稳定型冠心病、持续性心律失常）。在另一些实施方案中，所述方法能够准确区分有创操作导致心肌损伤与非心脏相关疾病（例如，肺炎、肾功能不全）。

10

此外，大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物或总心肌肌钙蛋白三元复合物，还用于心肌损伤的预后。具体可以用于以下临床场景。

#### (6) 评估急性心肌损伤预后

15 目前研究集中于用肌钙蛋白 I 和肌钙蛋白 T 评估心肌梗死患者预后，使用大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物和/或总心肌肌钙蛋白三元复合物评估有望提高预测急性心肌损伤患者未来发生心肌损伤相关的心脏事件或死亡的准确性，例如接受心脏外科手术病人的心肌损伤的预后或发生心肌梗死的病人的心肌损伤的预后。

20 在本文中，用于评估心肌梗死患者预后风险的标志物包括大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物和/或总心肌肌钙蛋白三元复合物，以及 cTnI、cTnT、TnC、心肌肌钙蛋白二元复合物和总心肌肌钙蛋白复合物中的一种或多种。

基于前述方法获得用于区分的特征参数，并基于前述比较的结果，对受试者心肌损伤进行评估，判断心肌梗死受试者预后，例如一年之内，半年之内或 3 个月内的预后。

在一些实施方案中，当所述特征参数高于该特征参数的参考值时，判断预后不良。

25 在一些实施方案中，基于所述一种或多种心肌损伤标志物的含量，获得用于评估心肌损伤的特征参数，包括：

将所述大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物或总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量确定为用于评估心肌损伤的特征参数。

30 在一些实施方案中，将所述受试者接受心脏外科手术前后血浆中大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物或总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量变化确定为用于评估接受外科手术预后风险的特征参数。

评估接受外科手术（例如冠状动脉旁路移植术（CABG）或心脏瓣膜置换术）患者心肌损伤预后

5 基于外科手术前后所述大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物或总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量或其变化（例如，大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物或总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量在术后和术前的差值、或比值）确定为用于评估心肌损伤的特征参数。在一些实施方案中，基于逻辑回归算法，构建基于多种心肌损伤标志物组合的特征参数。例如大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物的含量与 cTnT 的含量的组合。

在一些实施方案中，制作 ROC 曲线建立所述特征参数的预测模型，并计算最佳阈值（cutoff）作为参考值。

10 在一些实施方案中，利用二分类 Logistic 回归分析，评估患者复合终点事件（选自主要临床事件包括全因死亡、心肌梗死及计划外冠脉血运重建的复合事件，和次要临床事件包括心血管死亡、主要临床事件的各组成部分、卒中、心衰住院或急诊留观 24 小时及以上、心脏骤停或恶性心律失常和其他因心血管疾病住院事件的任意组合）发生的风险。

15 在一些实施方案中，利用 COX 回归，评估患者复合终点事件（选自主要临床事件包括全因死亡、心肌梗死及计划外冠脉血运重建的复合事件，和次要临床事件包括心血管死亡、主要临床事件的各组成部分、卒中、心衰住院或急诊留观 24 小时及以上、心脏骤停或恶性心律失常和其他因心血管疾病住院事件的任意组合）发生的风险。

评估心肌梗死患者心肌损伤预后

20 将所述大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物或总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量确定为用于评估心肌损伤的特征参数。

在一些实施方案中，制作 ROC 曲线建立所述特征参数的预测模型，并计算最佳阈值（cutoff）作为参考值。

25 在一些实施方案中，利用二分类 Logistic 回归分析，评估患者复合终点事件（选自主要临床事件包括全因死亡、心肌梗死及计划外冠脉血运重建的复合事件，和次要临床事件包括心血管死亡、主要临床事件的各组成部分、卒中、心衰住院或急诊留观 24 小时及以上、心脏骤停或恶性心律失常和其他因心血管疾病住院事件的任意组合）发生的风险。

在一些实施方案中，利用 COX 回归，评估患者复合终点事件发生的风险。

(7) 评估慢性心肌损伤患者预后风险

目前研究集中于用肌钙蛋白 I 和肌钙蛋白 T 评估慢性心肌损伤患者预后，使用大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物和/或总心肌肌钙蛋白三元复合物评估有望提高预测的准确性。

5 在本文中，用于评估慢性心肌损伤患者预后风险的标志物包括大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物和/或总心肌肌钙蛋白三元复合物，以及 cTnI、cTnT、TnC、心肌肌钙蛋白二元复合物和总心肌肌钙蛋白复合物中的一种或多种。

10 基于前述方法获得用于区分的特征参数，并基于前述比较的结果，对慢性心肌损伤（例如，心肌病、慢性心力衰竭、结构性心脏病、浸润性疾病、稳定型冠心病、持续性心律失常）受试者进行预后风险评估。

在一些实施方案中，当所述特征参数高于该特征参数的参考值时，判断预后不良。

在一些实施方案中，基于所述一种或多种心肌损伤标志物的含量，获得用于评估心肌损伤的特征参数，包括：

15 将所述大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物或总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量确定为用于评估心肌损伤的特征参数。

20 将所述大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物或总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量确定为用于评估心肌损伤的特征参数。在一些实施方案中，基于逻辑回归算法，构建基于多种心肌损伤标志物组合的特征参数。例如大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物的含量与总心肌肌钙蛋白复合物的含量的组合，或大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物的含量与 cTnT 的含量的组合。

在一些实施方案中，制作 ROC 曲线建立所述特征参数的预测模型，并计算最佳阈值（cutoff）作为参考值。

在一些实施方案中，利用二分类 Logistic 回归分析，评估患者复合终点事件发生的风险。

25 在一些实施方案中，利用 COX 回归，评估患者复合终点事件发生的风险。

30 本申请的方法优选为离体(ex vivo)或体外(in vitro)方法。此外，其可以包括上文明确提及的步骤之外的步骤。例如，进一步的步骤可以涉及样品预处理和通过所述方法获得结果的评价。所述方法可以手动进行或通过自动化辅助。优选地，检测步骤、计算步骤和比较步骤可以全部或部分地通过自动化辅助，例如，通过用于检测的合适的机器人和感觉设备、计算步骤中数据处理装置上的计算机执行的计算算法、或比较步骤中数据处理装置上

的比较和/或诊断算法。

### 装置和样本分析系统

在第二个方面，本申请提供一种获取用于评估受试者心肌损伤的特征参数的装置，如图 1 所示，该装置 100 包括：

5 数据接收模块 110，被配置用于接收从来自受试者的样品中获取的一种或多种心肌损伤标志物的含量，所述一种或多种心肌损伤标志物包括大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物和/或总心肌肌钙蛋白三元复合物；

数据处理模块 120，被配置用于处理接收模块接收到的一种或多种心肌损伤标志物的含量数据，获得用于评估心肌损伤的特征参数；

10 以及，输出模块 130，被配置用于输出所述特征参数。

在一些实施方案中，所述数据处理模块处理所述一种或多种心肌损伤标志物的含量，获得用于评估心肌损伤的特征参数，包括：

所述数据处理模块将所述大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物或总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量确定为用于评估心肌损伤的特征参数；或者

15 所述数据处理模块基于所述大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物的含量和所述总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量获得用于评估心肌损伤的特征参数。

在一些实施方案中，所述心肌损伤标志物进一步包括下述的一种或多种：cTnI、cTnT、TnC、心肌肌钙蛋白二元复合物和总心肌肌钙蛋白复合物。

20 在一些实施方案中，所述一种或多种心肌损伤标志物进一步包括 cTnI、cTnT 和总心肌肌钙蛋白复合物中的至少一个。

在一些实施方案中，所述数据处理模块处理所述一种或多种心肌损伤标志物的含量，获得用于评估心肌损伤的特征参数，包括：所述数据处理模块将所述多种心肌损伤标志物的含量输入预设函数模型，以得到所述预设函数模型的输出作为用于评估心肌损伤的特征参数。

25 在一些实施方案中，所述数据处理模块处理所述一种或多种心肌损伤标志物的含量，获得用于评估心肌损伤的特征参数，包括：所述数据处理模块将下列比例参数之一确定为用于评估心肌损伤的特征参数，或者基于下列比例参数中的至少两个参数来获得用于评估心肌损伤的特征参数，或者基于下列比例参数中的至少一个参数和 cTnT 的含量与总心肌肌钙蛋白复合物的含量的比例来获得用于评估心肌损伤的特征参数；

30 所述比例参数包括：大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物的含量与 cTnI 的含量的比例、大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物的含量与 cTnT 的含量的比例、大尺寸心肌肌钙蛋白三元复

合物的含量与总心肌肌钙蛋白复合物的含量的比例、总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量与 cTnI 的含量的比例、总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量与 cTnT 的含量的比例、总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量与总心肌肌钙蛋白复合物的含量的比例以及大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物的含量与总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量的比例。

5 在一些实施方案中，所述比例参数为大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物的含量与 cTnI、cTnT 或总心肌肌钙蛋白复合物的含量的比例；任选地，所述比例参数进一步包括总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量与 cTnI、cTnT 或总心肌肌钙蛋白复合物的含量的比例，和/或 cTnT 的含量与 cTnI 或总心肌肌钙蛋白复合物的含量的比例。

在第三个方面，本申请提供一种样本分析系统，包括：

10 样本承载部，用于承载装有受试者的样品的容器；  
样本分注部，用于从样本承载部吸取受试者的样品并将其排放到待加样的反应杯中；  
试剂承载部，用于承载检测试剂；  
试剂分注部，用于从试剂承载部吸取检测试剂并将其排放到待加试剂的反应杯中；  
15 反应部，用于放置反应杯，以便孵育反应杯中的由受试者的样品与检测试剂反应得到的试液；

检测部，具有信号检测器，用于检测反应杯中的试液的信号，以测定和输出受试者的样品中的一种或多种心肌损伤标志物的含量，所述一种或多种心肌损伤标志物包括大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物和/或总心肌肌钙蛋白三元复合物；以及

20 数据处理部，包括处理器和计算机可读存储介质，在计算机可读存储介质上存储有计算机可读指令，其特征在于，所述计算机可读指令在被处理器执行时引起所述处理器实施如下步骤：

接收并处理所述一种或多种心肌损伤标志物的含量，以获得用于评估心肌损伤的特征参数；以及

输出所述特征参数。

25 图 2 示出本申请实施例提供的一种样本分析系统 200，该样本分析系统尤其是构造为化学发光分析仪或包括化学发光分析仪。如图 2 所示，样本分析系统 200 包括样本承载部 210、样本分注部 220、试剂承载部 230、试剂分注部 240、反应部 250、检测部 260 和根据第二个方面的装置 270。

30 样本承载部 210 用于承载装有受试者的血液样品的容器。例如，样本承载部 210 可以构造为样本盘，该样本盘包括多个可以放置容器 10 的样本位，并且样本盘能够通过转动将装有血液样品的容器调度到相应位置、例如调度到供样本分注部 220 吸取血液样本的位置。

样本分注部 220 用于从样本承载部 210 吸取受试者的血液样本、例如血清并将其排放到待加样的反应杯中。例如，样本分注部 112 可以包括样本针，该样本针能通过二维或三维的驱动机构在空间上进行二维或三维的运动，从而样本针能够移动到吸取血液样本的位置以及移动到待加样的反应杯，并向该反应杯排放所吸取的血液样本。

5 试剂承载部 230 用于承载检测试剂，例如用于测定所述一种或多种心肌损伤标志物的含量的试剂。例如，试剂承载部 230 可以构造为具有圆盘状结构的试剂盘，该试剂盘具有多个用于承载试剂容器的位置，试剂承载部 230 能够转动并带动其承载的试剂容器转动，以便将试剂容器转动到特定的位置，例如被试剂分注部 240 吸取试剂的位置。试剂承载部件 230 的数量可以为一个或多个。

10 试剂分注部 240 用于从试剂承载部 230 吸取检测试剂并将其排放到待加试剂的反应杯中。例如，试剂分注部 240 可以包括试剂针，试剂针能够通过二维或三维的驱动机构在空间上进行二维或三维的运动，从而试剂针能够移动到吸取试剂的位置以及移动到待加试剂的反应杯，并向该反应杯排放所吸取的试剂。

15 反应部 250 用于放置反应杯，以便孵育反应杯中的由受试者的血液样本与检测试剂反应得到的试液。例如，反应部 250 可以构造为具有圆盘状结构的反应盘，该反应盘具有一个或多个用于放置反应杯的放置位，反应盘能够转动并带动其放置位中的反应杯运动，以便在反应盘内调度反应杯以及孵育反应杯中的试液。

20 检测部 260 具有信号检测器、例如光学检测器，用于检测反应杯中的试液的信号，以测定和输出受试者的样品中的一种或多种心肌损伤标志物的含量。检测部 260 例如设置在反应部 250 的外部，反应部 250 转动，以便带动装有试液的容器运动至检测部 260 处进行检测。在一些实施例中，检测部 260 构造为测光装置。

25 例如，当样本分析系统构造为化学发光分析仪或包括化学发光分析仪时，检测部 260 构造为测光装置。化学发光分析仪的一个具体检测流程如下：样本分注部 220 从样本承载部 210 吸取待测样本并将其加入到反应杯中；试剂分注部 240 从试剂承载部 230 吸取酶标试剂和磁珠试剂并将其加入到已加样本的反应杯中，以便与样本混匀；然后将该反应杯放置到反应部 250 进行反应、孵育以及磁分离清洗；接着在完成反应、孵育以及磁分离清洗的反应杯中加入发光底物，并孵育一段时间；最后检测部 260 检测待测样本中的被测物质在发光底物作用下发出的光子，以便通过测得的光子数量计算得到被测物质的浓度水平。关于样本分析系统的其他实施例和优点可参考以上对装置 100 的描述。

30 检测试剂盒及应用

在第四个方面，本申请提供用于样品中大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物定量检测的试



剂和/或总心肌肌钙蛋白三元复合物定量检测的试剂在制备试剂盒中的用途，其中所述试剂盒用于本申请所述心肌损伤的评估。相应地，本申请提供含有所述用于样品中大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物定量检测的试剂和/或总心肌肌钙蛋白三元复合物定量检测的试剂的试剂盒。

5 在一些实施方案中，所述试剂盒中进一步包括心肌肌钙蛋白总复合物定量检测的试剂、cTnI 定量检测的试剂和/或 cTnT 定量检测的试剂。

研究发现，应用本申请检测大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物和总心肌肌钙蛋白三元复合物的试剂盒对于更快速、准确地获得所述心肌损伤标志物含量、进而获得所述用于评估心肌损伤的特征参数是有益的。

10 在一些实施方案中，所述用于样品中大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物定量检测的试剂包括第一组抗体和第二组抗体，其中，

所述第一组抗体包括一个或多个抗体 1-1，各所述抗体 1-1 独立地选自特异性结合 cTnT 第 67-222 位氨基酸序列中任意一段的抗体；

15 所述第二组抗体包括一个或多个抗体 1-2，各所述抗体 1-2 独立地选自特异性结合 TnC 氨基酸序列中任意一段的抗体。

在一些实施方案中，所述第一组抗体不包括特异性结合 cTnT 第 223-287 位氨基酸序列中任意一段的抗体。

在一些实施方案中，所述第二组抗体还包括：

20 一个或多个抗体 1-3，各所述抗体 1-3 独立地选自特异性结合 cTnIC 的抗体；和/或，一个或多个抗体 1-4，各所述抗体 1-4 独立地选自特异性结合 cTnI 第 18-210 位氨基酸序列中任意一段的抗体。

在一些实施方案中，所述第一组抗体包括一个或多个所述抗体 1-1，所述第二组抗体包括一个或多个所述抗体 1-2 以及一个或多个所述抗体 1-3。

25 在一些实施方案中，各所述抗体 1-1 独立地选自特异性结合 cTnT 第 67-86 位氨基酸、第 119-138 位氨基酸、第 132-151 位氨基酸、第 145-164 位氨基酸或第 171-190 位氨基酸的抗体。在一些实施方案中，各所述抗体 1-1 独立地选自特异性结合 cTnT 第 119-138 位氨基酸、第 132-151 位氨基酸或第 171-190 位氨基酸的抗体。

30 在一些实施方案中，各所述抗体 1-4 独立地选自特异性结合 cTnI 第 1-15 位氨基酸、第 13-22 位氨基酸、第 18-22 位氨基酸、第 18-28 位氨基酸、第 18-35 位氨基酸、第 22-31 位氨基酸、第 22-40 位氨基酸、第 23-29 位氨基酸、第 24-40 位氨基酸、第 25-40 位氨基酸、第 26-35 位氨基酸、第 34-37 位氨基酸、第 41-49 位氨基酸、第 83-89 位氨基酸、第 86-90

位氨基酸、第 87-90 位氨基酸、第 117-126 位氨基酸、第 130-145 位氨基酸、第 169-178 位氨基酸、第 186-192 位氨基酸、第 190-196 位氨基酸或第 195-209 位氨基酸的抗体。在一些实施方案中，各所述抗体 1-4 独立地选自特异性结合 cTnI 第 22-40 位氨基酸、第 41-49 位氨基酸或第 83-89 位氨基酸的抗体。在一些实施方案中，各所述抗体 1-4 独立地选自特异性结合 cTnI 第 41-49 位氨基酸的抗体。

在一些实施方案中，所述第一组抗体为捕获抗体，所述第二组抗体为检测抗体。

在一些实施方案中，所述用于样品中总心肌肌钙蛋白三元复合物定量检测的试剂包括第一检测试剂和第二检测试剂，其中，

所述第一检测试剂包括一个或多个抗体 2-1，各所述抗体 2-1 独立地选自特异性结合 cTnT 第 223-287 位氨基酸序列中任意一段的抗体；

所述第二检测试剂包括一个或多个抗体 2-2，各所述抗体 2-2 独立地选自特异性结合 TnC 氨基酸序列中任意一段的抗体。

在一些实施方案中，所述第一检测试剂还包括一个或多个抗体 2-3，各所述抗体 2-3 独立地选自特异性结合 cTnT 第 67-222 位氨基酸序列中任意一段的抗体。

在一些实施方案中，所述第二检测试剂还包括：

一个或多个抗体 2-4，各所述抗体 2-4 独立地选自特异性结合 cTnIC 的抗体；和/或一个或多个抗体 2-5，各所述抗体 2-5 独立地选自特异性结合 cTnI 第 18-210 位氨基酸序列中任意一段的抗体。

在一些实施方案中，所述第一检测试剂包括一个或多个所述抗体 2-1 和一个或多个所述抗体 2-3；所述第二检测试剂包括一个或多个所述抗体 2-2，以及一个或多个所述抗体 2-4 和/或一个或多个所述抗体 2-5。

在一些实施方案中，各所述抗体 2-1 独立地选自特异性结合 cTnT 第 223-242 位氨基酸、第 262-281 位氨基酸的抗体。在一些实施方案中，所述抗体 2-1 特异性结合 cTnT 第 223-242 位氨基酸的抗体。

在一些实施方案中，各所述抗体 2-3 独立地选自特异性结合 cTnT 第 67-86 位氨基酸、第 119-138 位氨基酸、第 132-151 位氨基酸、第 145-164 位氨基酸或第 171-190 位氨基酸的抗体。在一些实施方案中，各所述抗体 2-3 独立地选自特异性结合 cTnT 第 119-138 位氨基酸或第 132-151 位氨基酸的抗体。

在一些实施方案中，各所述抗体 2-5 独立地选自特异性结合 cTnI 第 1-15 位氨基酸、第 13-22 位氨基酸、第 18-22 位氨基酸、第 18-28 位氨基酸、第 18-35 位氨基酸、第 22-31 位氨基酸、第 22-40 位氨基酸、第 23-29 位氨基酸、第 24-40 位氨基酸、第 25-40 位氨基酸、

第 26-35 位氨基酸、第 34-37 位氨基酸、第 41-49 位氨基酸、第 83-89 位氨基酸、第 86-90 位氨基酸、第 87-90 位氨基酸、第 117-126 位氨基酸、第 130-145 位氨基酸、第 169-178 位氨基酸、第 186-192 位氨基酸、第 190-196 位氨基酸或第 195-209 位氨基酸的抗体。在一些实施方案中，各所述抗体 2-5 独立地选自特异性结合 cTnI 第 22-40 位氨基酸、第 41-49 位氨基酸或第 83-89 位氨基酸的抗体。在一些实施方案中，各所述抗体 2-5 独立地选自特异性结合 cTnI 第 41-49 位氨基酸的抗体。

在一些实施方案中，所述第一检测试剂为捕获试剂，所述第二检测试剂组为检测试剂。

在一些实施方案中，所述试剂盒用于下述一项或多项：

- 1) 心肌梗死分期，特别是判断所述受试者是否处于心肌梗死早期；
- 2) 区分 I 型心肌梗死和慢性心脏事件；
- 3) 排除未发生心肌损伤事件的胸痛受试者；
- 4) 区分 I 型心肌梗死和 II 型心肌梗死；
- 5) 区分有创操作所致心肌损伤和慢性心脏事件；
- 6) 评估急性心肌损伤预后；
- 7) 评估慢性心肌损伤预后。

有益效果

- 1) 通过患者样本中的肌钙蛋白复合物和片段检测，实现在肌钙蛋白浓度升高的情况下，评估个体心肌损伤病因及风险。
- 2) 避免连续监测肌钙蛋白带来的困难，提高临床周转率，有助于建立更快速的诊断流程。
- 3) 有助于胸痛患者的分层，指导诊断决策和治疗决策。

具体实施方式

## 实施例 1. 检测试剂盒及信噪比分析

### 一、试剂盒的构建

本领域技术人员应当理解，定量检测所述心肌损伤标志物的试剂盒，包括市售试剂盒，均可以用于确定所述心肌损伤标志物的含量。出于非限制性目的，下面示例性地描述了 cTnI、cTnT、总心肌肌钙蛋白复合物、大尺寸 cTnITC 和总 cTnITC 检测试剂盒。

- 将捕获抗体-检测抗体（本文中所使用的抗体均来自 Hytest）应用于双抗体夹心化学发光免疫分析方法，构建各试剂盒。

**1. 心肌损伤标志物 cTnI、cTnT 和总心肌肌钙蛋白复合物检测试剂盒构建****(1) 总复合物检测试剂盒:**

捕获抗体: 特异性结合 cTnI 氨基酸 41-49 片段的抗体 19C7cc;

检测抗体: 特异性结合 cTnIC 复合物表位的抗体 20C6cc;

**5 (2) cTnT 检测试剂盒:**

捕获抗体: 特异性结合 cTnT 氨基酸 119-138 片段的抗体 329cc;

检测抗体: 特异性结合 cTnT 氨基酸 132-151 片段的抗体 406cc。

**(3) cTnI 检测试剂盒:**

捕获抗体: 特异性结合 cTnI 氨基酸 41-49 片段的抗体 19C7cc;

**10** 检测抗体: 特异性结合 cTnI 氨基酸 24-40 片段的抗体 RecR33。

**2. 大尺寸 cTnITC 检测试剂盒的构建****(1) 大尺寸 cTnITC 检测试剂盒 1**

捕获抗体为: 抗体 1-1: 特异性结合 cTnT 氨基酸片段 119-138 的抗体 329cc;

检测抗体为: 抗体 1-3: 特异性结合 cTnIC 复合物表位的抗体 20C6cc。

**15 (2) 大尺寸 cTnITC 检测试剂盒 2**

捕获抗体为: 抗体 1-1: 特异性结合 cTnT 氨基酸片段 119-138 的抗体 329cc;

检测抗体为: 抗体 1-4: 特异性结合 cTnI 氨基酸片段 41-49 的抗体 19C7cc。

**(3) 大尺寸 cTnITC 检测试剂盒 3**

捕获抗体为: 抗体 1-1: 特异性结合 cTnT 氨基酸片段 119-138 的抗体 329cc;

**20** 检测抗体为: 抗体 1-2: 特异性结合 TnC 的抗体 7B9cc; 和抗体 1-3: 特异性结合 cTnIC 复合物表位的抗体 20C6cc。

**(4) 大尺寸 cTnITC 检测试剂盒 4**

捕获抗体为: 抗体 1-1: 特异性结合 cTnT 氨基酸片段 119-138 的抗体 329cc;

**25** 检测抗体为: 抗体 1-2: 特异性结合 TnC 的抗体 7B9cc; 和抗体 1-4: 特异性结合 cTnI 氨基酸片段 41-49 的抗体 19C7cc。

**(5) 大尺寸 cTnITC 检测试剂盒 5**

捕获抗体为: 抗体 1-1: 特异性结合 cTnT 氨基酸片段 119-138 的抗体 329cc;

检测抗体为: 抗体 1-2: 特异性结合 TnC 的抗体 7B9cc。

**(6) 大尺寸 cTnITC 检测试剂盒 6**

**30** 捕获抗体为: 抗体 1-1: 特异性结合 cTnT 氨基酸片段 171-190 的抗体 1C11cc;

检测抗体为: 抗体 1-2: 特异性结合 TnC 的抗体 7B9cc; 和抗体 1-3: 特异性结合 cTnIC

复合物表位的抗体 Tcom8。

(7) 大尺寸 cTnITC 检测试剂盒 7

捕获抗体为：抗体 1-1：特异性结合 cTnT 氨基酸片段 132-151 的抗体 406cc；

检测抗体为：抗体 1-2：特异性结合 TnC 的抗体 7B9cc；和抗体 1-3：特异性结合 cTnIC

5 复合物表位的抗体 20C6cc。

(8) 大尺寸 cTnITC 检测试剂盒 8

捕获抗体为：抗体 1-1：特异性结合 cTnT 氨基酸片段 119-138 的抗体 300cc；

检测抗体为：抗体 1-2：特异性结合 TnC 的抗体 7B9cc；和抗体 1-3：特异性结合 cTnIC

复合物表位的抗体 20C6cc。

10 除以上试剂盒外，实验中也使用了将所述大尺寸 cTnITC 检测试剂盒 3-8 中所使用的抗体 1-1 替换下述抗体得到的试剂盒：特异性结合位点为 cTnT 氨基酸 67-86 片段的抗体 7F4 或 7G7，特异性结合位点为 cTnT 氨基酸 145-164 片段的抗体 2F3、1A11 或 1F11cc。实验中也使用了将所述大尺寸 cTnITC 检测试剂盒 4 中所使用的抗体 1-4 替换为下述抗体作为抗体 1-4 得到的试剂盒：特异性结合位点为 cTnI 氨基酸 18-28 片段的抗体 M18cc，特异性结合位点为 cTnI 氨基酸 86-90 片段的抗体 16A11cc、16A12cc 或 8E10cc，特异性结合位点为 cTnI 氨基酸 130-145 片段的抗体 M46，特异性结合位点为 cTnI 氨基酸 190-196 片段的抗体 MF4cc。

3. 总心肌肌钙蛋白三元复合物检测试剂盒的构建

20 将捕获抗体-检测抗体应用于双抗体夹心化学发光免疫分析方法，构建检测试剂盒，用于检测样本中的总三元肌钙蛋白复合物 cTnITC。

总 cTnITC 检测试剂盒 1：

捕获抗体为：抗体 2-1：7E7（特异性结合 cTnT 氨基酸片段 223-242）；抗体 2-3：329cc（特异性结合 cTnT 氨基酸片段 119-138）。

检测抗体为：抗体 2-4：20C6cc（特异性结合 cTnIC 复合物表位）。

25 总 cTnITC 检测试剂盒 2：

捕获抗体为：抗体 2-1：7E7（特异性结合 cTnT 氨基酸片段 223-242）；抗体 2-3：329cc（特异性结合 cTnT 氨基酸片段 119-138）。

检测抗体为：抗体 2-5：19C7cc（特异性结合 cTnI 氨基酸片段 41-49）。

总 cTnITC 检测试剂盒 3：

30 捕获抗体为：抗体 2-1：7E7（特异性结合 cTnT 氨基酸片段 223-242）；抗体 2-3：329cc（特异性结合 cTnT 氨基酸片段 119-138）。

检测抗体为：抗体 2-2：7B9cc（特异性结合 TnC）；抗体 2-4：20C6cc（特异性结合 cTnIC 复合物表位）；

总 cTnITC 检测试剂盒 4：

5 捕获抗体为：抗体 2-1：7E7（特异性结合 cTnT 氨基酸片段 223-242）；抗体 2-3：329cc（特异性结合 cTnT 氨基酸片段 119-138）。

检测抗体为：抗体 2-2：7B9cc（特异性结合 TnC）；抗体 2-5：19C7cc（特异性结合 cTnI 氨基酸片段 41-49）。

总 cTnITC 检测试剂盒 5：

10 捕获抗体为：抗体 2-1：7E7（特异性结合 cTnT 氨基酸片段 223-242）；抗体 2-3：329cc（特异性结合 cTnT 氨基酸片段 119-138）。

检测抗体为：抗体 2-2：7B9cc（特异性结合 TnC）。

总 cTnITC 检测试剂盒 6：

捕获抗体为：抗体 2-1：7E7（特异性结合 cTnT 氨基酸片段 223-242）。

检测抗体为：抗体 2-2：7B9cc（特异性结合 TnC）。

15 总 cTnITC 检测试剂盒 7：

捕获抗体为：抗体 2-1：155（特异性结合 cTnT 氨基酸片段 262-281）。

检测抗体为：抗体 2-2：7B9cc（特异性结合 TnC）；抗体 2-4：Tcom8（特异性结合 cTnIC 复合物表位）。

总 cTnITC 检测试剂盒 8：

20 捕获抗体为：抗体 2-1：7E7（特异性结合 cTnT 氨基酸片段 223-242）；抗体 2-3：406cc（特异性结合 cTnT 氨基酸片段 132-151 片段）。

检测抗体为：抗体 2-2：7B9cc（特异性结合 TnC）；抗体 2-4：20C6cc（特异性结合 cTnIC 复合物表位）；

总 cTnITC 检测试剂盒 9：

25 捕获抗体为：抗体 2-1：7E7（特异性结合 cTnT 氨基酸片段 223-242）；抗体 2-3：300cc（特异性结合 cTnT 氨基酸片段 119-138 片段）。

检测抗体为：抗体 2-2：7B9cc（特异性结合 TnC）；抗体 2-4：20C6cc（特异性结合 cTnIC 复合物表位）；

总 cTnITC 检测试剂盒 10：

30 捕获抗体为：抗体 2-1：155（特异性结合 cTnT 氨基酸片段 262-281）；抗体 2-3：406cc（特异性结合 cTnT 氨基酸片段 132-151 片段）。

检测抗体为：抗体 2-2：7B9cc（特异性结合 TnC）；抗体 2-4：20C6cc（特异性结合 cTnIC 复合物表位）；

总 cTnITC 检测试剂盒 11：

5 捕获抗体为：抗体 2-1：7E7（特异性结合 cTnT 氨基酸片段 223-242）；抗体 2-3：7G7（特异性结合 cTnT 氨基酸片段 67-86 片段）。

检测抗体为：抗体 2-2：7B9cc（特异性结合 TnC）；抗体 2-4：20C6cc（特异性结合 cTnIC 复合物表位）；

总 cTnITC 检测试剂盒 12：

10 捕获抗体为：抗体 2-1：7E7（特异性结合 cTnT 氨基酸片段 223-242）；抗体 2-3：1C11cc（特异性结合 cTnT 氨基酸片段 171-190 片段）。

检测抗体为：抗体 2-2：7B9cc（特异性结合 TnC）；抗体 2-4：Tcom8（特异性结合 cTnIC 复合物表位）。

除以上试剂盒外，实验中也使用了将所述总 cTnITC 检测试剂盒 3-5、8-12 中所使用的抗体 2-3 替换为下述抗体的试剂盒：特异性结合位点为 cTnT 氨基酸 67-86 片段的抗体 15 7F4、特异性结合位点为 cTnT 氨基酸 145-164 片段的抗体 2F3、1A11 或 1F11cc。实验中也使用了将所述总 cTnITC 检测试剂盒 4 中所使用的抗体 2-5 替换为下述抗体的试剂盒：特异性结合位点为 cTnI 氨基酸 18-28 片段的抗体 M18cc、特异性结合位点为 cTnI 氨基酸 86-90 片段的抗体 16A11cc、16A12cc 或 8E10cc、特异性结合位点为 cTnI 氨基酸 130-145 片段的抗体 M46、特异性结合位点为 cTnI 氨基酸 190-196 片段的抗体 MF4cc。

20 各检测试剂盒包括：

A.磁珠包被物工作液，用于实现对样本中心肌损伤标志物的捕获。所述磁珠包被物工作液包括：包被着捕获抗体的超顺磁微粒混合物。

B.酶标记物工作液，用于实现对超顺磁微粒捕获的心肌损伤标志物的检测。所述酶标记物工作液包括：碱性磷酸酶标记的检测抗体。

25 4. 心肌损伤标志物检测方法

检测方法如下：

第一步：将样本与磁珠包被物工作液、酶标记物工作液添加到反应管中，经过孵育，样本中的目标蛋白与包被在磁珠上的抗体结合，同时抗体-碱性磷酸酶标记物与样本中目标蛋白结合。反应完成后，固相置于一个磁场内，磁场吸住磁珠，结合在固相上的物质被保留，洗去未结合的物质。

30 第二步：将化学发光底物添加到反应管内，发光底物（3-(2-螺旋金刚烷)-4-甲氧基-4-(3-

磷氧酰)-苯基-1,2-二氧环乙烷, AMPPD) 被碱性磷酸酶所分解, 脱去一个磷酸基, 生成不稳定的中间产物, 该中间产物通过分子内电子转移产生间氧苯甲酸甲酯阴离子, 处于激发态的间氧苯甲酸甲酯阴离子从激发态返回基态时, 产生化学发光, 再通过光电倍增管对反应中所产生的光子数进行测量。所产生光子数与样本内目标蛋白的浓度成正比。样本内分析物的量由校准曲线来确定。

上述检测试剂盒可以在迈瑞全自动化学发光仪 CL2000i、CL6000i、CL8000i 等机型上配套使用。

## 二、检测试剂盒信噪比分析

### 1. 大尺寸 cTnITC 检测试剂盒信噪比分析

10 配制含有不同浓度抗原的样本, 包括两个高浓度样本(高值样本)和两个低浓度样本(低值样本), 其中抗原为重组心肌肌钙蛋白三元复合物(Hytest, 8ITCR)。使用大尺寸 cTnITC 检测试剂盒 1-8 分别对样本进行分析。同时记录不含抗原的空白样本信号, 计算信噪比。

15 测试结果见图 3, 由图 3 可见, 大尺寸 cTnITC 检测试剂盒 1-8 均具有良好的信噪比, 符合临床需求。其中大尺寸 cTnITC 检测试剂盒 3 的信噪比显著高于大尺寸 cTnITC 检测试剂盒 1 和大尺寸 cTnITC 检测试剂盒 5, 其中大尺寸 cTnITC 检测试剂盒 4 的信噪比显著高于大尺寸 cTnITC 检测试剂盒 2 和大尺寸 cTnITC 检测试剂盒 5, 表明特异性结合 TnC 的抗体 1-2 与抗体 1-3 或抗体 1-4 共同使用能够显著提升信噪比。大尺寸 cTnITC 检测试剂盒 3、7 和 8 具有较高信噪比, 表明特异性结合位点在 cTnT 氨基酸 119-138 位和 132-151 20 位的抗体 1-1 对于信噪比提升有明显帮助。

25 此外, 将大尺寸 cTnITC 检测试剂盒 3-8 中所使用的抗体 1-1 替换为下述抗体: 特异性结合位点为 cTnT 氨基酸 67-86 片段的抗体 7F4 或 7G7、特异性结合位点为 cTnT 氨基酸 145-164 片段的抗体 2F3、1A11 或 1F11cc, 将大尺寸 cTnITC 检测试剂盒 4 中所使用的抗体 1-4 替换为下述抗体: 特异性结合位点为 cTnI 氨基酸 18-28 片段的抗体 M18cc、特异性结合位点为 cTnI 氨基酸 86-90 片段 16A11cc、16A12cc 或 8E10cc, 特异性结合位点为 cTnI 氨基酸 130-145 片段的抗体 M46, 特异性结合位点为 cTnI 氨基酸 190-196 片段的抗体 MF4cc, 均能有效反应样本的信号差异。

### 2. 总 cTnITC 检测试剂盒信噪比分析

30 参照大尺寸 cTnITC 检测试剂盒信噪比分析方法, 对总 cTnITC 检测试剂盒 1-12 的信噪比进行了分析。

测试结果见图 4, 由图 4 可见, 总 cTnITC 检测试剂盒 1-12 均具有良好的信噪比, 符



合临床需求。其中总 cTnITC 检测试剂盒 5 的信噪比高于总 cTnITC 检测试剂盒 6，表明特异性结合 cTnT 氨基酸片段 67-222 的抗体 2-3 的加入提升了信噪比。总 cTnITC 检测试剂盒 3 的信噪比显著高于总 cTnITC 检测试剂盒 1 和总 cTnITC 检测试剂盒 5，总 cTnITC 检测试剂盒 4 的信噪比显著高于总 cTnITC 检测试剂盒 2 和总 cTnITC 检测试剂盒 5，表明特异性结合 TnC 的抗体 2-2 与抗体 2-4 或抗体 2-5 共同使用能够显著提升信噪比。总 cTnITC 检测试剂盒 3、8 和 9 信噪比相似，表明选择特异性结合 cTnT 第 67-222 位氨基酸不同片段的抗体作为抗体 2-3，所得试剂盒信噪比接近。总 cTnITC 检测试剂盒 8 的信噪比显著优于总 cTnITC 检测试剂盒 10，表明选择特异性结合 cTnT 第 223-242 位氨基酸的抗体作为抗体 2-1 比选择特异性结合 cTnT 第 262-281 位氨基酸的抗体具有更好的信噪比。

10 总 cTnITC 检测试剂盒 3 的信噪比显著高于总 cTnITC 检测试剂盒 11 和 12，表明特异性结合 cTnT 第 119-138 的抗体作为抗体 2-3 相较于特异性结合 cTnT 第 67-86 位或第 171-190 位的抗体是更有优势的。

此外，将所述总 cTnITC 检测试剂盒 3-5、8-12 中所使用的抗体 2-3 替换为下述抗体：特异性结合位点为 cTnT 氨基酸 67-86 片段的抗体 7F4、特异性结合位点为 cTnT 氨基酸 145-164 片段的抗体 2F3、1A11 或 1F11cc，将所述总 cTnITC 检测试剂盒 4 中所使用的抗体 2-5 替换为下述抗体：特异性结合位点为 cTnI 氨基酸 18-28 片段的抗体 M18cc、特异性结合位点为 cTnI 氨基酸 86-90 片段的抗体 16A11cc、16A12cc 或 8E10cc、特异性结合位点为 cTnI 氨基酸 130-145 片段的抗体 M46、特异性结合位点为 cTnI 氨基酸 190-196 片段的抗体 MF4cc，均能有效反应样本的信号差异。

### 20 三、检测试剂盒特异性分析

#### 1. 大尺寸 cTnITC 检测试剂盒特异性分析

将等浓度的不同抗原添加至健康人的血清中，并使用大尺寸 cTnITC 检测试剂盒 1-8 分别通过化学发光免疫分析方法对其进行分析。分析的抗原包括：cTnT (Hytest, 8RTT5)、cTnI (Hytest, 8RT17)、cTnIC (Hytest, 8ICR3)、cTnITC (Hytest, 8ITCR)。

25 实验结果见图 5，大尺寸 cTnITC 检测试剂盒 1-8 均仅能识别 cTnITC 抗原，但不能识别 cTnT、cTnI 及二元 cTnIC。此外，将大尺寸 cTnITC 检测试剂盒 3-8 中所使用的抗体 1-1 替换为下述抗体：特异性结合位点为 cTnT 氨基酸 67-86 片段的抗体 7F4 或 7G7、特异性结合位点为 cTnT 氨基酸 145-164 片段的抗体 2F3、1A11 或 1F11cc，将大尺寸 cTnITC 检测试剂盒 4 中所使用的抗体 1-4 替换为下述抗体：特异性结合位点为 cTnI 氨基酸 18-28 片段的抗体 M18cc、特异性结合位点为 cTnI 氨基酸 86-90 片段 16A11cc、16A12cc 或 8E10cc，特异性结合位点为 cTnI 氨基酸 130-145 片段的抗体 M46，特异性结合位点为 cTnI 氨基酸

30

190-196 片段的抗体 MF4cc, 均能有效识别 cTnITC 抗原。

2. 总 cTnITC 检测试剂盒特异性分析

参照大尺寸 cTnITC 检测试剂盒特异性分析方法, 对总 cTnITC 检测试剂盒 1-9 的特异性进行分析。

5 实验结果见图 6, 总 cTnITC 的检测试剂盒 1-9 均仅能识别 cTnITC 抗原, 不能识别 cTnT、cTnI 及二元 cTnIC。此外, 将所述总 cTnITC 检测试剂盒 3-5、8-12 中所使用的抗体 2-3 替换为下述抗体: 特异性结合位点为 cTnT 氨基酸 67-86 片段的抗体 7F4、特异性结合位点为 cTnT 氨基酸 145-164 片段的抗体 2F3、1A11 或 1F11cc, 将所述总 cTnITC 检测试剂盒 4 中所使用的抗体 2-5 替换为下述抗体: 特异性结合位点为 cTnI 氨基酸 18-28 片段的抗体 M18cc、特异性结合位点为 cTnI 氨基酸 86-90 片段的抗体 16A11cc、16A12cc 或 8E10cc、特异性结合位点为 cTnI 氨基酸 130-145 片段的抗体 M46、特异性结合位点为 cTnI 氨基酸 190-196 片段的抗体 MF4cc, 均能有效识别 cTnITC 抗原。

四、检测试剂盒空白限与检出限的建立

15 根据临床和实验室标准协会 (CLSI) 的建议 (EP-17A2 Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation) 建立空白限 (LoB) 与检出限 (LoD)。

LoB 测试结果来源于 5 个空白样本, 运行 4 天, 每次测试重复 4 次。通用公式为  $LoB = \text{平均值} + 1.65 * SD$ 。

LoD 测试结果来源于 5 个低浓度样本, 运行 4 天, 每次测试重复 4 次。通用公式为  $LoD = LoB + 1.65 * SD$ 。

20 测试结果见表 1-1 和表 1-2。

表1-1: 大尺寸cTnITC检测试剂盒的LoB与LoD

大尺寸cTnITC检测试剂盒	1	2	3	4	5	6	7	8
空白限 (LoB) (ng/L)	2.93	3.72	0.20	1.88	2.31	2.04	0.13	1.20
检出限 (LoD) (ng/L)	5.12	6.02	0.34	3.85	4.37	4.03	0.31	2.83

表 1-2: 总 cTnITC 检测试剂盒的 LoB 与 LoD

总 cTnITC 检测试剂盒	1	2	3	4	5	6	7	8	9
空白限 (LoB) (ng/L)	4.8	6.1	0.9	2.3	3.2	4.2	3.4	0.8	1.8
检出限 (LoD) (ng/L)	8.6	11.2	1.5	3.8	5.8	7.2	5.9	1.4	3.1

大尺寸 cTnITC 检测试剂盒 1-8 的空白限与检出限均满足临床需求。其中大尺寸 cTnITC 检测试剂盒 3 的空白限与检出限显著低于大尺寸 cTnITC 检测试剂盒 1 和大尺寸 cTnITC 检测试剂盒 5，其中大尺寸 cTnITC 检测试剂盒 4 的空白限与检出限显著低于大尺寸 cTnITC 检测试剂盒 2 和大尺寸 cTnITC 检测试剂盒 5，表明特异性结合 TnC 的抗体 1-2 的加入并与抗体 1-3 或抗体 1-4 共同使用能够显著提升试剂盒的灵敏度。此外，将大尺寸 cTnITC 检测试剂盒 3-8 中所使用的抗体 1-1 替换为下述抗体：特异性结合位点为 cTnT 氨基酸 67-86 片段的抗体 7F4 或 7G7、特异性结合位点为 cTnT 氨基酸 145-164 片段的抗体 2F3、1A11 或 1F11cc，将大尺寸 cTnITC 检测试剂盒 4 中所使用的抗体 1-4 替换为下述抗体：特异性结合位点为 cTnI 氨基酸 18-28 片段的抗体 M18cc、特异性结合位点为 cTnI 氨基酸 86-90 片段 16A11cc、16A12cc 或 8E10cc，特异性结合位点为 cTnI 氨基酸 130-145 片段的抗体 M46，特异性结合位点为 cTnI 氨基酸 190-196 片段的抗体 MF4cc，均具有较低的 LoB 和 LoD 值。

总 cTnITC 检测试剂盒 1-9 的空白限与检出限均满足临床需求。其中总 cTnITC 检测试剂盒 5 的空白限与检出限低于总 cTnITC 检测试剂盒 6，表明特异性结合 cTnT 氨基酸片段 119-138 的抗体 2-3 的加入提升了灵敏度。总 cTnITC 检测试剂盒 3 的空白限与检出限显著低于总 cTnITC 检测试剂盒 1 和总 cTnITC 检测试剂盒 5，总 cTnITC 检测试剂盒 4 的空白限与检出限显著低于总 cTnITC 检测试剂盒 2 和总 cTnITC 检测试剂盒 5，表明特异性结合 TnC 的抗体 2-2 的加入，并与抗体 2-4 或抗体 2-5 共同使用显著提升了试剂盒的灵敏度。此外，将所述总 cTnITC 检测试剂盒 3-5、8-12 中所使用的抗体 2-3 替换为下述抗体：特异性结合位点为 cTnT 氨基酸 67-86 片段的抗体 7F4、特异性结合位点为 cTnT 氨基酸 145-164 片段的抗体 2F3、1A11 或 1F11cc，将所述总 cTnITC 检测试剂盒 4 中所使用的抗体 2-5 替换为下述抗体：特异性结合位点为 cTnI 氨基酸 18-28 片段的抗体 M18cc、特异性结合位点为 cTnI 氨基酸 86-90 片段的抗体 16A11cc、16A12cc 或 8E10cc、特异性结合位点为 cTnI 氨基酸 130-145 片段的抗体 M46、特异性结合位点为 cTnI 氨基酸 190-196 片段的抗体 MF4cc，均具有较低的 LoB 和 LoD 值。

## 五、检测试剂盒的线性分析

### 1. 大尺寸 cTnITC 检测试剂盒的线性分析

大尺寸 cTnITC 检测试剂盒 3 和大尺寸 cTnITC 试剂盒 4，被用于线性分析。

选取临床血清样本为高浓度样本，将高浓度样本按一定比例稀释，得到一系列稀释样本，系列稀释样本的浓度范围为 0-6000 ng/L。

使用大尺寸 cTnITC 检测试剂盒 3 通过化学发光免疫分析方法对样本进行分析。将测

试浓度结果平均值和理论浓度进行线性拟合，并计算在线性范围内相关系数。

实验结果见图 7。稀释样本的测试浓度与理论浓度呈线性。线性范围内（0-6000 ng/L）的 R2 值为 0.9982。

5 使用大尺寸 cTnITC 检测试剂盒 4 通过化学发光免疫分析方法对样本进行分析。将测试浓度结果平均值和理论浓度进行线性拟合，并计算在线性范围内相关系数。实验结果见图 8，稀释样本的测试浓度与理论浓度呈线性。线性范围内（0-6000 ng/L）的 R2 值为 0.9995。

## 2. 总 cTnITC 检测试剂盒的线性分析

检测试剂盒 3 和试剂盒 4，被用于线性分析。

10 选取浓度不同的两个临床血清样本为高浓度样本，将高浓度样本按一定比例稀释，得到一系列稀释样本，系列样本的浓度范围为 0-120 ng/L 和 0-6000 ng/L。使用检测试剂盒 3 通过化学发光免疫分析方法对样本进行分析。将测试浓度结果平均值和理论浓度进行线性拟合，并计算在线性范围内相关系数。实验结果见图 9，稀释样本的测试浓度与理论浓度呈线性。线性范围内，低浓度范围（0-120 ng/L）的 R2 值为 0.9990，高浓度范围（0-6000 ng/L）的 R2 值为 0.9992。

15 使用检测试剂盒 4 通过化学发光免疫分析方法对样本进行分析。将测试浓度结果平均值和理论浓度进行线性拟合，并计算在线性范围内相关系数。实验结果见图 10，稀释样本的测试浓度与理论浓度呈线性。线性范围内，低浓度范围（0-120 ng/L）的 R2 值为 0.9979，高浓度范围（0-6000 ng/L）的 R2 值为 0.9988。

20 在下面的实施例中，使用上述 cTnI 检测试剂盒、cTnT 检测试剂盒、总心肌肌钙蛋白复合物检测试剂盒、大尺寸 cTnITC 检测试剂盒 7 和总 cTnITC 检测试剂盒 8 检测样本中各标志物浓度。

## 实施例 2. 诊断早期心肌梗死（心肌梗死患者的分期）

### 1. 患者入组

25 选择入院诊断及最终诊断为 1 型急性心肌梗死的患者入组，患者年龄大于或等于 18 岁。所有患者均被诊断为心肌梗死，随后接受介入治疗。急性心肌梗死由医院心脏病专家根据急性心肌梗死的定义独立裁定。通过临床检查，包括体格检查、超声心动图、心电图记录、高敏肌钙蛋白 I 检测、高敏肌钙蛋白 T 检测和冠状动脉造影等完成急性心肌梗死的裁定。如果最终诊断不是急性心肌梗死或诊断信息不完整，则排除患者。排除年龄小于 18 30 岁的患者；排除怀孕的女性患者。在介入治疗前采集肝素锂血浆样本，用于肌钙蛋白复合物及片段组成分析。患者的入组流程见图 11。

记录患者信息，患者信息包含：年龄、性别、症状（胸痛、胸闷、气喘等）及发作时间、既往病史、高血压、糖尿病、是否吸烟、肌酐、肾小球过滤率。选择符合入组标准的样本进行相关标志物测试。共纳入急性心肌梗死患者 61 例，其中男性患者 49 例，占比 80%。患者信息见表 2-1。

5

表2-1：急性心肌梗死患者入组信息

全部患者例数	61
年龄	59 (50.0-70.5)
男性	49 (80%)
近期吸烟	17 (28%)
高血压	36 (59%)
糖尿病	14 (23%)
肌酐, mol/L	88.0 (76.5-105.4)
肾小球过滤率 eGFR (mL/min/1.73 m <sup>2</sup> )	81.0 (63.5-100.0)
采血时症状发作时间 (小时)	112 (21.0-241.0)
	≤10 小时 9 (15%)
	10 小时<, ≤30 小时 9 (15%)
	30 小时<, ≤72 小时 6 (10%)
	> 72 小时 37 (60%)

注：连续变量呈现为中值（25-75%四分位）；分类变量呈现为数字（百分比）。

2. 肌钙蛋白标志物的浓度与急性心肌梗死患者胸痛时间关系分析

10 样本入组后，在迈瑞化学发光仪上测试入组患者样本中的肌钙蛋白标志物，包括总复合物、大尺寸cTnITC、总cTnITC、cTnT和cTnI。根据患者的胸痛持续时间（≤10小时、10-30小时、30-72小时和> 72小时）将患者分为不同的亚组。患者血液中总复合物、大尺寸cTnITC、总cTnITC、cTnT和cTnI的浓度见表2-2。其中胸痛持续时间10到72小时的患者中，总复合物、大尺寸cTnITC、总cTnITC、cTnT、cTnI的浓度显著高于胸痛持续时间> 72小时的患者。其中cTnI试剂盒和总复合物的测值类似，两者在临床上有一定的等效性。

表2-2: 总复合物、大尺寸cTnITC、总cTnITC、cTnT和cTnI在不同胸痛持续时间患者中的浓度

胸痛持续时间	≤10小时	10小时<, ≤30小时	30小时<, ≤72小时	> 72小时
总复合物 (10 <sup>-2</sup> pmol/L)	63.3 (22.5-7167.7)	5797.3 (1421.0-45608.2)	1326.3 (555.9-5337.8)	248.8 (38.4-2088.1)
大尺寸cTnITC (10 <sup>-2</sup> pmol/L)	11.0 (2.7-2348.2)	578.1 (39.1-2855.3)	73.3 (4.2-295.5)	3.0 (0.7-18.4)
总cTnITC (10 <sup>-2</sup> pmol/L)	29.0 (10.5-3591.5)	1725.2 (1725.2 76.2-30012.2)	147.0 (3.3-957.7)	37.8 (2.5-329.8)
cTnT (10 <sup>-2</sup> pmol/L)	417.3 (186.7-10079.7)	7410.4 (1609.4-35288.9)	2866.4 (1292.3-6713.3)	1529.9 (232.0-9349.1)
cTnI (10 <sup>-2</sup> pmol/L)	82.3 (21.8-8249.1)	7536.5 (1945.4-48530.8)	1631.2 (703.2-4804.1)	281.2 (40.4-2255.2)

注: 数值显示为中值 (25-75%四分位距)。

图 12 显示了不同胸痛持续时间患者的肌钙蛋白的复合物和片段的比例关系, 包括大尺寸 cTnITC 浓度与总复合物浓度的比例、总 cTnITC 浓度与总复合物浓度的比例、cTnT 浓度与总复合物浓度的比例。其中三元 cTnITC (包括大尺寸 cTnITC 和总 cTnITC) 在胸痛持续时间较短的早期急性心肌梗死患者中所占比例较高, 而 cTnT 在胸痛持续时间短于 10 小时和长于 72 小时的患者中所占比例较高。以上这些结果表明, 在确诊为急性心肌梗死的患者中, 心肌肌钙蛋白的复合物和片段组成与从出现症状到抽血的时间高度相关。在胸痛发作时间较短的早期急性心肌梗死患者中, 大尺寸 cTnITC 或总 cTnITC 的比例较高; 在胸痛持续时间小于 10 小时和大于 72 小时的患者中, cTnT 的比例较高。肌钙蛋白的复合物和片段组成与急性心肌梗死患者胸痛持续时间的相关性表明, 单独使用单一标志物, 比如 cTnT, 难以对疾病发生的阶段进行准确判断, 尤其是在胸痛表现不明显的患者中 (比如服用止痛药等情况)。对不同肌钙蛋白片段的特异性识别可用于急性心肌梗死的诊断和疾病状态的确定, 特别地, 三元复合物 (包括大尺寸 cTnITC 和总 cTnITC) 连续下降趋势更明显, 可能更适合早期诊断。

### 3. 浓度和浓度比例特征参数用于预测早期心肌梗死的诊断效力

表 2-3 示出浓度和浓度比例特征参数的诊断效力。该实施例中选择胸痛发作时间在 72 小时内的患者为早期心肌梗死患者。其中总复合物浓度、大尺寸 cTnITC 浓度、总 cTnITC

浓度、cTnI 浓度、大尺寸 cTnITC 与总复合物的浓度比例、总 cTnITC 与总复合物的浓度比例、cTnT 与总复合物的浓度比例、大尺寸 cTnITC 与 cTnT 的浓度比例、总 cTnITC 与 cTnT 的浓度比例、大尺寸 cTnITC 与 cTnI 的浓度比例的 P 值均小于 0.05，表明变量具有显著性。使用 SPSS 软件作 ROC 曲线，得到曲线下面积 AUC。其中大尺寸 cTnITC 浓度的曲线下面积 AUC 为 0.833，大尺寸 cTnITC 与总复合物的浓度比例的 AUC 为 0.883，大尺寸 cTnITC 与 cTnT 的浓度比例的 AUC 为 0.923，具有较好的诊断效能。cTnI 试剂盒和总复合物的测值类似，两者在临床上有一定的等效性。该结果显示，相比于单独使用总复合物、cTnT 或 cTnI 的浓度作为特征参数，单独使用大尺寸 cTnITC 或总 cTnITC 的浓度，或使用大尺寸 cTnITC 浓度或总 cTnITC 浓度与总复合物浓度、cTnT 浓度或 cTnI 浓度的比例作为特征参数能够更有效地预测早期心肌梗死。

表2-3：浓度和浓度比例特征参数用于早期心肌梗死的诊断效力

特征参数	ROC_AUC	标准误差	P	95%CI 下 限	95%CI 上 限
总复合物浓度	0.659	0.073	0.037	0.515	0.803
大尺寸 cTnITC 浓度	0.833	0.053	0.000	0.729	0.937
总 cTnITC 浓度	0.663	0.072	0.032	0.522	0.805
cTnT 浓度	0.570	0.074	0.360	0.425	0.715
cTnI 浓度	0.657	0.074	0.040	0.511	0.802
大尺寸 cTnITC 浓度/总复合物浓度	0.883	0.047	0.000	0.790	0.975
总 cTnITC 浓度/总复合物浓度	0.736	0.075	0.002	0.590	0.883
cTnT 浓度/总复合物浓度	0.806	0.064	0.000	0.680	0.931
大尺寸 cTnITC 浓度/cTnT 浓度	0.923	0.034	0.000	0.856	0.990
总 cTnITC 浓度/cTnT 浓度	0.775	0.072	0.000	0.634	0.916
大尺寸 cTnITC 浓度/cTnI 浓度	0.880	0.048	0.000	0.785	0.974

使用总复合物浓度、大尺寸 cTnITC 浓度、总 cTnITC 浓度、cTnI 浓度、大尺寸 cTnITC 与总复合物的浓度比例、总 cTnITC 与总复合物的浓度比例、cTnT 与总复合物的浓度比

例、大尺寸 cTnITC 与 cTnT 的浓度比例、总 cTnITC 与 cTnT 的浓度比例、大尺寸 cTnITC 与 cTnI 的浓度比例作为特征参数的不同 cutoff 值对应的灵敏度与特异性计算约登指数，根据约登指数最大值确定诊断最佳 CUTOFF 值，参见表 2-4。

表2-4：浓度和浓度比例特征参数用于早期心肌梗死诊断的cutoff值及对应的灵敏度与特异性

5

特征参数	CUTOFF	敏感度	特异性	最大约登指数
总复合物浓度	250.0	0.792	0.514	0.305
大尺寸 cTnITC 浓度	41.2	0.625	0.919	0.544
总 cTnITC 浓度	1671.2	0.333	0.973	0.306
cTnI 浓度	282.3	0.792	0.514	0.305
大尺寸 cTnITC 浓度/总复合物浓度	0.0450	0.833	0.919	0.752
总 cTnITC 浓度/总复合物浓度	0.1450	0.833	0.622	0.455
cTnT 浓度/总复合物浓度	3.4000	0.784	0.792	0.575
大尺寸 cTnITC 浓度/cTnT 浓度	0.0175	0.833	0.892	0.725
总 cTnITC 浓度/cTnT 浓度	0.0365	0.833	0.730	0.563
大尺寸 cTnITC 浓度/cTnI 浓度	0.0345	0.875	0.865	0.740

#### 4. 多个浓度特征参数的联合用于预测早期心肌梗死的诊断效力

标志物浓度的特征参数包括总复合物浓度、大尺寸 cTnITC 浓度、总 cTnITC 浓度、cTnT 浓度、cTnI 浓度。该实施例中选择胸痛发作时间在 72 小时内的患者为早期心肌梗死患者。

10 选择大尺寸 cTnITC 浓度和 cTnT 浓度为特征量进行联合分析，基于逻辑回归算法构建特征参数，各特征量的系数由逻辑回归估计而得，从而得到特征参数的计算公式，即， $\text{Logit}(P) = 0.0661 * (\text{大尺寸 cTnITC 浓度}) - 0.0012 * (\text{cTnT 浓度}) - 0.4725$ 。预测概率（特征参数 1）的计算方法为： $P = 1 / (1 + e^{-\text{logit}}) * 100\%$ 。

15 选择大尺寸 cTnITC 浓度和总复合物浓度为特征量进行联合分析，基于逻辑回归算法构建特征参数，各特征量的系数由逻辑回归估计而得，从而得到特征参数的计算公式，即， $\text{Logit}(P) = 0.0313 * (\text{大尺寸 cTnITC 浓度}) - 0.0009 * (\text{总复合物浓度}) - 0.8964$ 。预测概率（特征参数 2）的计算方法为： $P = 1 / (1 + e^{-\text{logit}}) * 100\%$ 。

20 选择大尺寸 cTnITC 浓度和总 cTnITC 浓度为特征量进行联合分析，基于逻辑回归算法构建特征参数，各特征量的系数由逻辑回归估计而得，从而得到特征参数的计算公式，即， $\text{Logit}(P) = 0.0224 * (\text{大尺寸 cTnITC 浓度}) - 0.0013 * (\text{总 cTnITC 浓度}) - 1.2990$ 。预测



概率（特征参数 3）的计算方法为： $P=1/(1+e^{-\text{logit}})*100\%$ 。

选择大尺寸 cTnITC 浓度、总 cTnITC 浓度、总复合物浓度以及 cTnT 浓度为特征量进行联合分析，基于逻辑回归算法构建特征参数，各特征量的系数由逻辑回归估计而得，从而得到特征参数的计算公式，即， $\text{Logit}(P)=0.0615*(\text{大尺寸 cTnITC 浓度})-0.0002*(\text{总 cTnITC 浓度})+0.0003*(\text{总复合物浓度})-0.0013*(\text{cTnT 浓度})-0.4727$ 。预测概率（特征参数 4）的计算方法为： $P=1/(1+e^{-\text{logit}})*100\%$ 。

其中特征参数 1、特征参数 2、特征参数 3、特征参数 4 的曲线下面积 AUC 分别为 0.923、0.880、0.858、0.920，具有较好的诊断效能，参见表 2-5。根据约登指数最大值确定诊断最佳 CUTOFF 值分别为 0.3829、0.2949、0.2249、0.3592，参见表 2-6。

10 表2-5：多浓度特征参数联合分析用于预测早期心肌梗死的诊断效力

特征参数	ROC_AUC	标准误差	P	95%CI 下限	95%CI 上限
特征参数 1	0.923	0.035	0.000	0.854	0.993
特征参数 2	0.880	0.050	0.000	0.782	0.977
特征参数 3	0.858	0.052	0.000	0.756	0.961
特征参数 4	0.920	0.036	0.000	0.849	0.991

表2-6：多浓度特征参数联合分析cutoff值对应的灵敏度与特异性

特征参数	CUTOFF	敏感度	特异性	最大约登指数
特征参数 1	0.3829	0.833	0.919	0.752
特征参数 2	0.2949	0.875	0.838	0.713
特征参数 3	0.2249	0.833	0.811	0.644
特征参数 4	0.3592	0.875	0.838	0.713

此外，其他浓度特征参数组合包括：总 cTnITC 浓度+总复合物浓度、总 cTnITC 浓度+cTnT 浓度、大尺寸 cTnITC 浓度+总 cTnITC 浓度+总复合物浓度、大尺寸 cTnITC 浓度+总 cTnITC 浓度+cTnT 浓度、大尺寸 cTnITC 浓度+总复合物浓度+cTnT 浓度、总 cTnITC 浓度+总复合物浓度+cTnT 浓度，采用上述方式进行联合用于早期心肌梗死的诊断，均具有较好的诊断效能。该结果显示，大尺寸 cTnITC 浓度和/或总 cTnITC 浓度与其他肌钙蛋白片段浓度联合用于预测早期心肌梗死具有较好的性能。

5.浓度比例特征参数联合用于预测早期心肌梗死的诊断效力

20 浓度比例特征参数包括大尺寸 cTnITC 或总 cTnITC 的浓度与总复合物、cTnT 或 cTnI 的浓度的比例，即大尺寸 cTnITC 浓度/总复合物浓度、总 cTnITC 浓度/总复合物浓度、

cTnT 浓度/总复合物或浓度、大尺寸 cTnITC 浓度/cTnT 浓度、总 cTnITC 浓度/cTnT 浓度、大尺寸 cTnITC 浓度/cTnI 浓度、总 cTnITC 浓度/cTnI 浓度。该实施例中选择胸痛发作时间在 72 小时内的患者为早期心肌梗死患者。

选择大尺寸 cTnITC 浓度/总复合物浓度、总 cTnITC 浓度/总复合物浓度、cTnT 浓度/总复合物浓度为特征量进行联合分析，基于逻辑回归算法构建特征参数，各特征量的系数由逻辑回归估计而得，从而得到特征参数的计算公式，即， $\text{Logit}(P) = 27.708 * (\text{大尺寸 cTnITC 浓度/总复合物浓度}) + 9.322 * (\text{总 cTnITC/总复合物}) - 0.558 * (\text{cTnT 浓度/总复合物浓度}) - 1.456$ 。预测概率（特征参数 5）的计算方法为： $P = 1 / (1 + e^{-\text{logit}}) * 100\%$ 。

选择大尺寸 cTnITC 浓度/cTnT 浓度、总 cTnITC 浓度/cTnT 浓度为特征量进行联合分析，基于逻辑回归算法构建特征参数，各特征量的系数由逻辑回归估计而得，从而得到特征参数的计算公式，即， $\text{Logit}(P) = 78.924 * (\text{大尺寸 cTnITC 浓度/cTnT 浓度}) + 21.483 * (\text{总 cTnITC 浓度/cTnT 浓度}) - 3.004$ 。预测概率（特征参数 6）的计算方法为： $P = 1 / (1 + e^{-\text{logit}}) * 100\%$ 。

其中特征参数 5、特征参数 6 的曲线下面积 AUC 分别为 0.945、0.938，具有较好的诊断效能，参见表 2-7)。根据约登指数最大值确定诊断最佳 CUTOFF 值分别为 0.2729、0.2031，参见表 2-8)。

表2-7：多浓度比例特征参数联合分析用于预测早期心肌梗死的诊断效力

特征参数	ROC_AUC	标准误差	P	95%CI 下限	95%CI 上限
特征参数 5	0.945	0.027	0.000	0.892	0.998
特征参数 6	0.938	0.028	0.000	0.883	0.994

表2-8：多浓度比例参数联合分析cutoff值对应的灵敏度与特异性

特征参数	CUTOFF	敏感度	特异性	最大约登指数
特征参数 5	0.2729	0.958	0.811	0.769
特征参数 6	0.2031	0.958	0.811	0.769

此外，其他浓度比例参数组合包括大尺寸 cTnITC 浓度/总复合物浓度+总 cTnITC 浓度/总复合物浓度、大尺寸 cTnITC 浓度/总复合物浓度+ cTnT 浓度/总复合物浓度、总 cTnITC 浓度/总复合物浓度+cTnT 浓度/总复合物浓度、大尺寸 cTnITC 浓度/总复合物浓度+总 cTnITC 浓度/总复合物浓度+大尺寸 cTnITC 浓度/cTnT 浓度、大尺寸 cTnITC 浓度/总复合物浓度+总 cTnITC 浓度/总复合物浓度+总 cTnITC 浓度/cTnT 浓度，采用上述方式进行联合用于早期心肌梗死的诊断，均具有较好的诊断效能。该结果显示，大尺寸 cTnITC

和其它肌钙蛋白片段比例和总 cTnITC 和其它肌钙蛋白片段比例之间的比例联合，以及至少其中之一与其他肌钙蛋白片段之间的比例联合用于预测早期心肌梗死具有较好的性能。

以上数据表明，大尺寸 cTnITC 浓度、总 cTnITC 浓度可以单独作为特征参数用于预测早期心肌梗死。大尺寸 cTnITC 浓度或总 cTnITC 浓度与总复合物浓度、cTnT 或 cTnI 的比例也可以用于预测早期心肌梗死，优选使用大尺寸 cTnITC 浓度/总复合物浓度、大尺寸 cTnITC 浓度/cTnT 浓度或大尺寸 cTnITC 浓度/cTnI 浓度。此外，联合使用多参数，比如大尺寸 cTnITC 浓度和 cTnT 浓度的联合使用、大尺寸 cTnITC 浓度和总复合物浓度的联合使用、大尺寸 cTnITC 浓度和总 cTnITC 浓度的联合使用、或大尺寸 cTnITC 浓度、总 cTnITC 浓度、总复合物浓度和 cTnT 浓度的联合使用，或大尺寸 cTnITC 浓度/总复合物浓度、总 cTnITC 浓度/总复合物浓度与 cTnT 浓度/总复合物浓度的联合使用或大尺寸 cTnITC 浓度/cTnT 浓度与总 cTnITC 浓度/cTnT 浓度的联合使用，能够进一步提升诊断效能。虽然不受理论约束，可能大尺寸 cTnITC 或者基于大尺寸 cTnITC 获得的特征参数更适合用于早期心肌梗死的诊断。

### 实施例 3. 区分 1 型和 2 型心肌梗死

#### 1. 患者入组

选择入院诊断及最终诊断为 1 型急性心肌梗死和 2 型急性心肌梗死的患者入组，患者年龄大于或等于 18 岁。所有患者均被诊断为 1 型急性心肌梗死或 2 型急性心肌梗死，且症状发作时间小于 72 小时。急性心肌梗死由医院心脏病专家根据急性心肌梗死的定义独立裁定。通过临床检查，包括体格检查、超声心动图、心电图记录、高敏肌钙蛋白 I 检测、高敏肌钙蛋白 T 检测和冠状动脉造影等完成急性心肌梗死的裁定。如果最终诊断不是 1 型急性心肌梗死或 2 型急性心肌梗死，或诊断信息不完整，则排除患者。排除年龄小于 18 岁的患者；排除怀孕的女性患者。在患者接受治疗前采集肝素锂血浆样本，用于肌钙蛋白复合物及片段组成分析。

共纳入 1 型急性心肌梗死患者 24 例；2 型急性心肌梗死患者 6 例。

#### 2. 心肌损伤标志物在 1 型心肌梗死和 2 型心肌梗死患者中的含量分析

样本入组后，在迈瑞化学发光仪上测试入组患者样本中的肌钙蛋白标志物，包括总复合物、大尺寸 cTnITC、总 cTnITC、cTnT 和 cTnI。分析急性心肌梗死患者和患有心肌病或慢性心力衰竭以及患有肺炎患者的肌钙蛋白组成差异。患者血液中总复合物、大尺寸 cTnITC、总 cTnITC、cTnT 和 cTnI 的浓度见表 3-1。其中患有 1 型心肌梗死的患者中，总复合物、大尺寸 cTnITC、总 cTnITC 和 cTnI 的浓度显著高于患有 2 型心肌梗死的患者。其中 cTnI 试剂盒和总复合物试剂盒的测值类似，两者在临床上有一定的等效性。

表3-1: 总复合物、大尺寸cTnITC、总cTnITC、cTnT、cTnI 在1型心肌梗死和2型心肌梗死患者中的浓度

心肌梗死	1型心肌梗死	2型心肌梗死	P 值
总复合物( $10^{-2}$ pmol/L)	1606.3 (257.2-12555.3)	120.6 (87.6-285.1)	*
大尺寸cTnITC( $10^{-2}$ pmol/L)	77.2 (8.2-931.4)	3.9 (1.2-7.0)	**
总cTnITC( $10^{-2}$ pmol/L)	217.4 (8.5-3733.5)	6.5 (4.2-17.0)	*
cTnT( $10^{-2}$ pmol/L)	2728.0 (811.6-14839.3)	430.3 (283.6-1404.7)	ns
cTnI( $10^{-2}$ pmol/L)	2122.2 (297.3-13537.9)	136.2 (90.2-343.2)	*

注: 数值显示为中值 (25-75%四分位距)。1型心肌梗死与2型心肌梗死之间的P值使用 Mann-Whitney U 检验进行比较。\* $P<0.05$ , \*\* $P<0.01$ , \*\*\* $P<0.001$ , \*\*\*\* $P<0.0001$ , ns, 无显著性差异。

5

图 13 显示了 1 型心肌梗死和 2 型心肌梗死患者的肌钙蛋白复合物和片段的比例关系, 包括大尺寸 cTnITC 浓度与总复合物浓度的比例、总 cTnITC 浓度与总复合物浓度的比例、cTnT 浓度与总复合物浓度的比例、大尺寸 cTnITC 浓度与 cTnT 浓度的比例、总 cTnITC 浓度与 cTnT 浓度的比例。其中大尺寸 cTnITC 浓度与总复合物浓度的比例、总 cTnITC 浓度与总复合物浓度的比例、大尺寸 cTnITC 浓度与 cTnT 浓度的比例、总 cTnITC 浓度与 cTnT 浓度的比例在 1 型心肌梗死患者中较高, 在 2 型心肌梗死患者中较低。

10

以上数据表明, 基于大尺寸 cTnITC 浓度或总 cTnITC 浓度可以用于区分 1 型心肌梗死和 2 型心肌梗死。其中, 优选大尺寸 cTnITC。

#### 实施例 4-1. 区分急性心肌梗死 (1 型) 与慢性心脏事件

15

##### 1. 患者入组

(1) 急性心肌梗死 (1型) 患者组: 选择入院诊断及最终诊断为1型急性心肌梗死的患者入组, 患者年龄大于或等于18岁。所有患者均被诊断为急性心肌梗死, 且症状发作时间小于72小时。这些患者随后接受介入治疗。急性心肌梗死由医院心脏病专家根据急性心肌梗死的定义独立裁定。通过临床检查, 包括体格检查、超声心动图、心电图记录、高敏肌钙蛋白I检测、高敏肌钙蛋白T检测和冠状动脉造影等完成急性心肌梗死的裁定。如果最终

20

怀孕的女性患者。在介入治疗前采集肝素锂血浆样本，用于肌钙蛋白复合物及片段组成分析。患者的入组流程见图14。

5 (2) 慢性心脏事件患者组：a) 选择入院诊断及最终诊断为慢性心力衰竭或心肌病的患者入组，患者年龄大于或等于18岁。如果最终诊断不是慢性心力衰竭或心肌病，则排除患者。如果患者同时被诊断为急性心肌梗死，则排除患者。排除年龄小于18岁的患者；排除怀孕的女性患者。心肌病和慢性心力衰竭由医院临床医生独立判定。急性心肌梗死由医院心脏病专家根据急性心肌梗死的定义独立裁定。收集这些患者入院后的首次肝素锂血浆样本，用于肌钙蛋白复合物及片段组成分析。患者的入组流程见图15。

10 b) 选择入院诊断及最终诊断为肺炎的患者入组，患者年龄大于或等于18岁。如果最终诊断不是肺炎，则排除患者。如果患者同时被诊断为急性心肌梗死，则排除患者。排除年龄小于18岁的患者；排除怀孕的女性患者。肺炎由医院临床医生独立判定。急性心肌梗死由医院心脏病专家根据急性心肌梗死的定义独立裁定。收集这些患者入院后的首次肝素锂血浆样本，用于肌钙蛋白复合物及片段组成分析。患者的入组流程见图16。

15 记录患者信息，患者信息包含：年龄、性别、既往病史、高血压、糖尿病、是否吸烟、肌酐、肾小球过滤率。选择符合入组标准的样本进行相关标志物测试。共纳入急性心肌梗死（1型）患者24例；慢性心脏事件患者145例，其中共收集94例心肌病或慢性心力衰竭住院患者的样本，51例肺炎患者的样本。患者信息见表4-1-1。

表4-1-1：入组患者特征。

	急性心肌梗死（1型）
全部患者例数	n= 24
年龄	59 (51.3-68.3)
男性	22 (92%)
近期吸烟	11 (46%)
高血压	13 (54%)
糖尿病	6 (25%)
肌酐, mmol/L	87.5 (77.3-104.5)
肾小球过滤率 eGFR (mL/min/1.73 m <sup>2</sup> )	80.5 (65.0-98.3)

慢性心脏事件	心肌病或慢性心力衰竭	肺炎
全部患者例数	n= 94	n= 51
年龄	63 (54.8-69.3)	75 (68.0-81.0)
男性	61 (65%)	31 (61%)
近期吸烟	3 (3%)	1 (2%)
高血压	52 (55%)	28 (55%)
糖尿病	20 (21%)	14 (27%)
肌酐, mmol/L	87.0 (72.0-108.3)	78.0 (66.0-103.5)
肾小球过滤率 eGFR (mL/min/1.73 m <sup>2</sup> )	75.0 (57.0-99.0)	77.0 (52.3-85.3)
COVID-19 感染	-	30 (59%)

连续变量呈现为中值（25-75%四分位）；分类变量呈现为数字（百分比）

## 2. 急性心肌梗死（1型）与慢性心脏事件样本中肌钙蛋白组成分析

5 样本入组后，使用迈瑞化学发光仪及配套试剂测试样本中的肌钙蛋白标志物，包括肌钙蛋白总复合物、大尺寸cTnITC、总cTnITC和cTnT。分析急性心肌梗死（1型）患者和患有心肌病或慢性心力衰竭以及患有肺炎患者的肌钙蛋白组成差异。患者血液中肌钙蛋白总复合物、大尺寸cTnITC、总cTnITC和cTnT的浓度见表4-1-2。

表4-1-2：总复合物、大尺寸cTnITC、总cTnITC和cTnT在急性心肌梗死(1型)与慢性心脏事件患者中的浓度

心肌损伤原因	急性心肌梗死(1型)	心肌病或慢性心力衰竭	肺炎
肌钙蛋白总复合物 (10 <sup>-2</sup> pmol/L)	1606.3 (257.2-12555.3)	19.5 (9.9-48.2)	9.5 (4.9-45.3)
大尺寸cTnITC (10 <sup>-2</sup> pmol/L)	77.2 (8.2-931.4)	0.8 (0.3-1.7)	0.3 (0.1-0.6)
总cTnITC (10 <sup>-2</sup> pmol/L)	217.4 (8.5-3733.5)	3.0 (1.2-4.9)	2.9 (1.2-4.9)
cTnT (10 <sup>-2</sup> pmol/L)	2728.0 (811.6-14839.3)	193.8 (105.9-326.1)	172.1 (94.6-363.9)

cTnI (10 <sup>-2</sup> pmol/L)	2122.2 (297.3-13537.9)	22.3 (10.2-57.1)	9.6 (5.3-52.5)
-----------------------------------	---------------------------	---------------------	-------------------

注：数值显示为中值（25-75%四分位距）。

图17显示了急性心肌梗死（1型）患者与慢性心脏事件患者的肌钙蛋白复合物和片段的  
比例关系，包括大尺寸cTnITC/总复合物、总cTnITC/总复合物、cTnT/总复合物、大尺寸  
5 cTnITC/cTnT、总cTnITC/cTnT的比例。其中大尺寸cTnITC/总复合物、大尺寸  
cTnITC/cTnT、总cTnITC/cTnT的比例在慢性心脏事件患者（包括心肌病或慢性心力衰竭  
患者以及肺炎患者）中所占比例较低，在急性心肌梗死（1型）患者中所占比例较高；而cTnT/  
总复合物的比例在慢性心脏事件患者中所占比例较高，在急性心肌梗死（1型）患者中所占  
比例较低。

肌钙蛋白的复合物和片段组成与疾病类型的相关性表明，对不同肌钙蛋白片段的特异  
10 性识别可用于急性心肌梗死（1型）与慢性心脏事件的诊断和区分。

3. 浓度特征参数和浓度比例特征参数用于区分急性心肌梗死（1型）和慢性心脏事件  
的诊断效力

表4-1-3示出所使用的肌钙蛋白复合物和片段标志物的诊断效力。该实施例中患者患有  
15 急性心肌梗死（1型）或慢性心脏事件，慢性心脏事件患者患有心肌病、慢性心力衰竭或者  
肺炎。为了便于复合物间的比例分析，纳入分析的患者样本中总复合物的浓度高于0.1  
pmol/L。

其中总复合物浓度、大尺寸cTnITC浓度、总cTnITC浓度、cTnT浓度、cTnI浓度、大  
20 尺寸cTnITC/总复合物比例、总cTnITC/总复合物比例、cTnT/总复合物比例、大尺寸  
cTnITC/cTnT比例、总cTnITC/cTnT比例、大尺寸cTnITC/cTnI比例的P值均小于0.05，表  
明变量具有显著性。其中大尺寸cTnITC浓度的曲线下面积AUC为0.929，总cTnITC浓度的  
曲线下面积AUC为0.869，大尺寸cTnITC/ cTnT的比例的AUC为0.870，具有较好的诊断效  
能。cTnI试剂盒和总复合物的测值类似，两者在临床上有一定的等效性。该结果显示，相  
25 比于单独使用肌钙蛋白总复合物、cTnT或cTnI检测的浓度，单独使用大尺寸cTnITC或总  
cTnITC的浓度，或使用大尺寸cTnITC与cTnT的比例能够更有效的区分急性心肌梗死（1  
型）和慢性心脏事件。

表4-1-3：浓度特征参数和浓度比例特征参数用于区分急性心肌梗死（1型）和慢性心脏事件  
的诊断效力

特征参数	ROC_AUC	标准误差	P	95%CI 下 限	95%CI 上 限
总复合物浓度	0.850	0.055	0.000	0.743	0.958
大尺寸 cTnITC 浓度	0.929	0.026	0.000	0.877	0.980
总 cTnITC 浓度	0.869	0.048	0.000	0.776	0.962
cTnT 浓度	0.850	0.053	0.000	0.745	0.954
cTnI 浓度	0.849	0.056	0.000	0.739	0.959
大尺寸 cTnITC/总复合物	0.782	0.060	0.000	0.664	0.899
总 cTnITC/总复合物	0.749	0.071	0.000	0.610	0.887
cTnT/总复合物	0.806	0.053	0.000	0.702	0.911
大尺寸 cTnITC/cTnT	0.870	0.043	0.000	0.785	0.955
总 cTnITC/cTnT	0.837	0.071	0.000	0.698	0.976
大尺寸 cTnITC/cTnI	0.755	0.063	0.000	0.633	0.878

使用特征参数的不同cutoff值对应的灵敏度与特异性计算约登指数,根据约登指数最大值确定诊断最佳CUTOFF值(表4-1-4)。总复合物浓度的CUTOFF值为247.7,大尺寸cTnITC浓度的CUTOFF值为1.9,总cTnITC浓度的CUTOFF值为13.6; cTnT浓度的CUTOFF值为754.7; cTnI浓度的CUTOFF值为278.8; 大尺寸cTnITC/总复合物的CUTOFF值为0.0498; 5 总cTnITC/总复合物的CUTOFF值为0.1779; cTnT/总复合物的CUTOFF值为3.4450; 大尺寸cTnITC/cTnT的CUTOFF值为0.0165; 总cTnITC/cTnT的CUTOFF值为0.0365; 大尺寸cTnITC/cTnI的CUTOFF值为0.0705。

表4-1-4: 浓度和浓度比例特征参数用于区分急性心肌梗死(1型)和慢性心脏事件的cutoff值及对应的灵敏度与特异性

特征参数	CUTOFF	敏感度	特异性	最大约登指数
总复合物浓度	247.7	0.792	0.906	0.698
大尺寸 cTnITC 浓度	1.9	0.958	0.750	0.708



总 cTnITC 浓度	13.6	0.750	0.906	0.656
cTnT 浓度	754.7	0.792	0.896	0.688
cTnI 浓度	278.8	0.792	0.906	0.698
大尺寸 cTnITC/总复合物	0.0498	0.833	0.740	0.573
总 cTnITC/总复合物	0.1779	0.792	0.719	0.510
cTnT/总复合物	3.4450	0.802	0.792	0.594
大尺寸 cTnITC/cTnT	0.0165	0.833	0.854	0.688
总 cTnITC/cTnT	0.0365	0.833	0.906	0.740
大尺寸 cTnITC/cTnI	0.0705	0.625	0.885	0.510

4. 浓度特征参数的多参数联合分析用于区分急性心肌梗死（1型）和慢性心脏事件的诊断效力

5 使用浓度特征参数的多参数联合分析用于区分急性心肌梗死（1型）和慢性心脏事件的诊断效力。特征参数包括肌钙蛋白复合物和片段的浓度，即总复合物浓度、大尺寸cTnITC浓度、总cTnITC浓度、cTnT浓度、cTnI浓度。该实施例中患者患有急性心肌梗死（1型）或慢性心脏事件，慢性心脏事件患者患有心肌病、慢性心力衰竭或者肺炎，患者样本中总复合物的浓度高于0.1 pmol/L。

10 选择大尺寸cTnITC浓度+cTnT浓度为特征量进行联合分析，基于逻辑回归算法构建组合预测参数，各特征量的系数由逻辑回归估计而得。输出预测值计算公式。 $\text{Logit}(P) = 0.0484 * (\text{大尺寸cTnITC浓度}) - 0.0003 * (\text{cTnT浓度}) - 2.3441$ 。预测概率（预测参数1）的计算方法为： $P = 1 / (1 + e^{-\text{logit}}) * 100\%$

15 选择大尺寸cTnITC浓度+总复合物浓度为特征量进行联合分析，基于逻辑回归算法构建组合预测参数，各特征量的系数由逻辑回归估计而得。输出预测值计算公式。 $\text{Logit}(P) = 0.0266 * (\text{大尺寸cTnITC浓度}) - 0.00004 * (\text{总复合物浓度}) - 2.3382$ 。预测概率（预测参数2）的计算方法为： $P = 1 / (1 + e^{-\text{logit}}) * 100\%$

选择大尺寸cTnITC浓度+总cTnITC浓度为特征量进行联合分析，基于逻辑回归算法构建组合预测参数，各特征量的系数由逻辑回归估计而得。输出预测值计算公式。 $\text{Logit}(P) =$

0.0315\*(大尺寸cTnITC浓度)-0.0016\*(总cTnITC浓度)-2.3538。预测概率(预测参数3)的计算方法为： $P=1/(1+e^{-\text{logit}})*100\%$

选择大尺寸cTnITC浓度+总cTnITC浓度+总复合物+cTnT浓度为特征量进行联合分析，基于逻辑回归算法构建组合预测参数，各特征量的系数由逻辑回归估计而得。输出预测值计算公式。 $\text{Logit}(P)=0.0523*(大尺寸cTnITC浓度)+0.0221*(总cTnITC浓度)+0.0001*(总复合物浓度)-0.0019*(cTnT浓度)-2.0412$ 。预测概率(预测参数4)的计算方法为： $P=1/(1+e^{-\text{logit}})*100\%$

其中预测参数1、预测参数2、预测参数3、预测参数4的曲线下面积AUC分别为0.870、0.928、0.845、0.960，具有较好的诊断效能(表4-1-5)。根据约登指数最大值确定诊断最佳CUTOFF值分别为0.1150、0.0920、0.1828、0.1077(表4-1-6)。

表4-1-5: 肌钙蛋白浓度特征参数的多参数联合分析用于区分急性心肌梗死(1型)和慢性心脏事件的诊断效力

特征参数	ROC_AUC	标准误差	P	95%CI 下限	95%CI 上限
预测参数 1	0.870	0.056	0.000	0.761	0.980
预测参数 2	0.928	0.026	0.000	0.877	0.979
预测参数 3	0.845	0.061	0.000	0.726	0.964
预测参数 4	0.960	0.017	0.000	0.926	0.993

表4-1-6: 肌钙蛋白浓度特征参数的多参数联合分析cutoff值对应的灵敏度与特异性

标志物参数	CUTOFF	敏感度	特异性	最大约登指数
预测参数 1	0.1150	0.792	0.917	0.708
预测参数 2	0.0920	0.958	0.750	0.708
预测参数 3	0.1828	0.708	0.958	0.667
预测参数 4	0.1077	0.958	0.875	0.833

此外，其他组合包括：总cTnITC浓度+总复合物浓度、总cTnITC浓度+cTnT浓度、大尺寸cTnITC浓度+总cTnITC浓度+总复合物浓度、大尺寸cTnITC浓度+总cTnITC浓度+

cTnT浓度、大尺寸cTnITC浓度+总复合物浓度+ cTnT浓度、总cTnITC浓度+总复合物浓度+ cTnT浓度，采用上述方式进行联合用于区分急性心肌梗死（1型）和慢性心脏事件，均具有较好的诊断效能。该结果显示，大尺寸cTnITC浓度或总cTnITC浓度与其他肌钙蛋白片段浓度联合分析用于区分急性心肌梗死（1型）和慢性心脏事件具有较好的性能。

5 6. 浓度比例特征参数的多参数联合分析用于区分急性心肌梗死（1型）和慢性心脏事件的诊断效力

使用浓度比例的多参数联合分析用于区分急性心肌梗死（1型）和慢性心脏事件的诊断效力。浓度比例特征参数包括肌钙蛋白复合物和片段与肌钙蛋白总复合物、cTnT或cTnI的比例，即大尺寸cTnITC/总复合物、总cTnITC/总复合物、cTnT/总复合物、大尺寸cTnITC/cTnT、总cTnITC/cTnT、大尺寸cTnITC/cTnI、总cTnITC/cTnI。该实施例中患者患有急性心肌梗死（1型）或慢性心脏事件，慢性心脏事件患者患有心肌病、慢性心力衰竭或者肺炎，患者样本中总复合物的浓度高于0.1 pmol/L。

10

选择大尺寸cTnITC/总复合物+总cTnITC/总复合物+ cTnT/总复合物为特征量进行联合分析，基于逻辑回归算法构建组合预测参数，各特征量的系数由逻辑回归估计而得。输出预测值计算公式。 $Logit(P) = 10.532 * (大尺寸cTnITC/总复合物) + 24.346 * (总cTnITC/总复合物) - 1.076 * (cTnT/总复合物) - 1.099$ 。预测概率（预测参数5）的计算方法为： $P = 1 / (1 + e^{-logit}) * 100\%$

15

选择大尺寸cTnITC/cTnT、总cTnITC/cTnT为特征量进行联合分析，基于逻辑回归算法构建组合预测参数，各特征量的系数由逻辑回归估计而得。输出预测值计算公式。 $Logit(P) = 16.149 * (大尺寸cTnITC/cTnT) + 62.770 * (总cTnITC/cTnT) - 4.041$ 。预测概率（预测参数6）的计算方法为： $P = 1 / (1 + e^{-logit}) * 100\%$

20

其中预测参数5、预测参数6的曲线下面积AUC分别为0.961、0.892，具有较好的诊断效能（表4-1-7）。根据约登指数最大值确定诊断最佳CUTOFF值分别为0.1562、0.2286（表4-1-8）。

25 表4-1-7：浓度比例的多参数联合分析用于区分急性心肌梗死（1型）和慢性心脏事件的诊断效力

标志物参数	ROC_AUC	标准误差	P	95%CI 下限	95%CI 上限
预测参数 5	0.961	0.018	0.000	0.927	0.996

预测参数 6	0.892	0.047	0.000	0.800	0.983
--------	-------	-------	-------	-------	-------

表4-1-8: 肌钙蛋白复合物和片段比例的多参数联合分析cutoff值对应的灵敏度与特异性

特征参数	CUTOFF	敏感度	特异性	最大约登指数
预测参数 5	0.1562	0.917	0.854	0.771
预测参数 6	0.2286	0.792	0.969	0.760

此外,其他组合包括大尺寸cTnITC/总复合物+总cTnITC/总复合物、大尺寸cTnITC/总复合物+ cTnT/总复合物、总cTnITC/总复合物+cTnT/总复合物、大尺寸cTnITC/总复合物+总cTnITC/总复合物+大尺寸cTnITC/cTnT、大尺寸cTnITC/总复合物+总cTnITC/总复合物+总cTnITC/cTnT采用上述方式进行联合用于区分急性心肌梗死(1型)和慢性心脏事件,均具有较好的诊断效能。该结果显示,大尺寸cTnITC和其它肌钙蛋白片段比例和总cTnITC和其它肌钙蛋白片段比例联合,以及至少两者之一与其他肌钙蛋白片段之间的比例联合分析用于区分急性心肌梗死(1型)和慢性心脏事件具有较好的性能。

以上数据表明,肌钙蛋白大尺寸cTnITC复合物,总cTnITC复合物单独使用可以用于区分急性心肌梗死(1型)和慢性心脏事件。大尺寸cTnITC复合物或总cTnITC复合物与总复合物的比例、大尺寸cTnITC浓度或总cTnITC浓度与cTnT浓度的比例也可以用于区分急性心肌梗死(1型)和慢性心脏事件。联合使用多个标志物的浓度,比如肌钙蛋白大尺寸cTnITC复合物+总复合物浓度、大尺寸cTnITC浓度+cTnT浓度、大尺寸cTnITC浓度+总cTnITC浓度、或大尺寸cTnITC浓度+总cTnITC浓度+总复合物浓度+cTnT浓度的联合使用,或联合使用多个标志物的比例,例如大尺寸cTnITC/总复合物、总cTnITC/总复合物、cTnT/总复合物的联合使用或者大尺寸cTnITC浓度/cTnT浓度、总cTnITC浓度/cTnT浓度的联合使用,能够进一步提升诊断效能。

## 20 实施例 4-2. 区分急性心肌梗死(1型)与慢性心脏事件(留观患者)

### 1. 患者入组

纳入就诊时首次采血且肌钙蛋白 I 测值在 99 百分位至 5 倍 99 百分位之间的患者,根据高敏心肌肌钙蛋白 0~3 h 快速诊断流程,这些患者无法纳入或排除,被称为留观患者。共纳入患者 84 人,其中 1 型急性心肌梗死的患者入组且症状发作时间小于 72 小时的有 9

人，其他慢性心脏事件患者 75 人。

患者信息见表4-2-1。

表4-2-1：入组患者特征。

全部患者例数	84
年龄	64 (56 - 73)
男性	51 (61%)
肌酐, mmol/L	91.5 (74.8 - 111.0)
肾小球过滤率 eGFR (mL/min/1.73 m <sup>2</sup> )	70.5 (49.8 - 93.0)
急性心肌梗死 (1 型)	9 (11%)
慢性心脏事件	75 (89 %)

注：连续变量呈现为中值（25-75%四分位）；分类变量呈现为数字（百分比）。

- 5 样本入组后，使用迈瑞化学发光仪及配套试剂测试样本中的肌钙蛋白标志物，包括肌钙蛋白总复合物、大尺寸 cTnITC、总 cTnITC 和 cTnT。分析急性心肌梗死（1 型）患者和患有慢性心脏事件患者的肌钙蛋白组成差异。患者血液中总复合物、大尺寸 cTnITC、总 cTnITC 和 cTnT 的浓度见表 4-2-2。

表 4-2-2：浓度或浓度比例特征参数在急性心肌梗死(1 型)与慢性心脏事件患者中的值

标志物	急性心肌梗死(1型)	慢性心脏事件
总复合物 (10 <sup>-2</sup> pmol/L)	63.5 (32.0 - 91.2)	47.5(32.8 - 60.3)
大尺寸cTnITC (10 <sup>-2</sup> pmol/L)	5.4(2.7 - 11.9)	1.2 (0.7 - 1.8)
总cTnITC (10 <sup>-2</sup> pmol/L)	8.3 (4.4 - 12.4)	4.5 (1.7 - 6.7)
cTnT (10 <sup>-2</sup> pmol/L)	197.3 (150.8 - 288.8)	301.7 (202.3 - 483.1)
大尺寸cTnITC/总复合物(%)	10.9(4.6 - 21.2)	2.7(1.5 - 4.4)
总cTnITC/总复合物 (%)	12.3(9.7 - 21.5)	9.8(4.9 - 16.4)
cTnT/总复合物 (%)	350.6(259.2 - 484.1)	718.5(437.7 - 1119.8)
大尺寸cTnITC/cTnT (%)	2.8(1.3 - 6.2)	0.3(0.2 - 0.8)
大尺寸cTnITC/cTnT (%)	3.2(2.3 - 6.0)	1.2(0.6 - 2.4)

- 10 注：数值显示为中值（25-75%四分位距）。

其中大尺寸 cTnITC 浓度与总复合物浓度的比例、大尺寸 cTnITC 度与 cTnT 浓度的

比例、总 cTnITC 度与 cTnT 度的比例在慢性心脏事件患者中所占比例较低，在急性心肌梗死（1 型）患者中所占比例较高；而 cTnT/总复合物的比例在慢性心脏事件患者中所占比例较高，在急性心肌梗死（1 型）患者中所占比例较低。肌钙蛋白的复合物和片段组成与疾病类型的相关性表明，对不同肌钙蛋白片段的特异性识别可用于在肌钙蛋白 I 测值在 99 百分位至 5 倍 99 百分位之间的患者中区分急性心肌梗死（1 型）与慢性心脏事件。

表 4-2-3 示出所使用的浓度和浓度比例特征参数在肌钙蛋白 I 测值在 99 百分位至 5 倍 99 百分位之间的患者中区分急性心肌梗死（1 型）与慢性心脏事件的诊断效力。

表 4-2-3: 浓度和浓度比例特征参数用于区分急性心肌梗死（1 型）和慢性心脏事件的诊断效力

特征参数	ROC_AUC	标准误差	P	95%CI 下限	95%CI 上限
总复合物浓度	0.623	0.116	0.232	0.395	0.850
大尺寸 cTnITC 浓度	0.842	0.086	0.001	0.674	1.000
总 cTnITC 浓度	0.714	0.085	0.037	0.547	0.881
cTnT 浓度	0.702	0.069	0.048	0.566	0.838
大尺寸 cTnITC 浓度/ 总复合物浓度	0.852	0.065	0.001	0.726	0.979
总 cTnITC 浓度/总复 合物浓度	0.653	0.085	0.136	0.486	0.820
cTnT 浓度/总复合物 浓度	0.799	0.064	0.004	0.673	0.924
大尺寸 cTnITC 浓度 /cTnT 浓度	0.875	0.046	0.000	0.785	0.965
总 cTnITC 浓度 /cTnT 浓度	0.842	0.059	0.001	0.726	0.957

10 其中大尺寸 cTnITC 浓度、总 cTnITC 浓度、cTnT 浓度、大尺寸 cTnITC 浓度与总复合物浓度的比例、cTnT 浓度与总复合物浓度的比例、大尺寸 cTnITC 浓度与 cTnT 浓度的比例、总 cTnITC 浓度与 cTnT 浓度的比例的 P 值均小于 0.05，表明变量具有显著性。其中大尺寸 cTnITC 浓度的曲线下面积 AUC 为 0.842，大尺寸 cTnITC 浓度与总复合物浓度的比例的 AUC 为 0.852，大尺寸 cTnITC 浓度与 cTnT 浓度的比例的 AUC 为 0.875，总 cTnITC 浓度与 cTnT 浓度的比例的 AUC 为 0.842，具有较好的诊断效能。该结果显示，  
15 使用大尺寸 cTnITC 浓度或使用大尺寸 cTnITC 浓度与总复合物浓度的比例、大尺寸

cTnITC 浓度与 cTnT 浓度的比例、总 cTnITC 浓度与 cTnT 浓度的比例作为特征参数能够更有效地区分急性心肌梗死（1 型）和慢性心脏事件。

使用特征参数的不同cutoff值对应的灵敏度与特异性计算约登指数，根据约登指数最大值确定诊断最佳CUTOFF值，参见表4-2-4。

5 表4-2-4：浓度和浓度比例特征参数用于区分急性心肌梗死（1型）和慢性心脏事件的cutoff值及对应的灵敏度与特异性

特征参数	CUTOFF	敏感度	特异性	最大约登指数
总复合物浓度	62.7900	0.667	0.795	0.461
大尺寸 cTnITC 浓度	1.9350	0.889	0.795	0.683
总 cTnITC 浓度	5.6600	0.778	0.658	0.435
cTnT 浓度	295.0900	0.533	0.889	0.422
大尺寸 cTnITC 浓度/ 总复合物浓度	0.0505	0.778	0.836	0.613
总 cTnITC 浓度/总复 合物浓度	0.1066	0.778	0.575	0.353
cTnT 浓度/总复合物 浓度	5.1106	0.733	0.889	0.622
大尺寸 cTnITC 浓度 /cTnT 浓度	0.0102	0.889	0.836	0.725
总 cTnITC 浓度 /cTnT 浓度	0.029	0.778	0.836	0.613

分析将由多个心肌损伤标志物的浓度特征参数组合得到的特征参数用于在肌钙蛋白 I 测值在 99 百分位至 5 倍 99 百分位之间的患者中区分急性心肌梗死（1 型）与慢性心脏事件的诊断效力。心肌损伤标志物的浓度特征参数包括肌钙蛋白复合物和片段的浓度，即总复合物浓度、大尺寸 cTnITC 浓度、总 cTnITC 浓度、cTnT 浓度、cTnI 浓度。

10

选择大尺寸 cTnITC 浓度和 cTnT 浓度为特征量进行联合分析，基于逻辑回归算法构建特征参数，各特征量的系数由逻辑回归估计而得，从而获得特征参数的计算公式，即， $\text{Logit}(P) = 0.1593 * (\text{大尺寸 cTnITC 浓度}) - 0.0052 * (\text{cTnT 浓度}) - 1.3890$ 。预测概率（特征参数 1）的计算方法为： $P = 1 / (1 + e^{-\text{logit}}) * 100\%$ 。

15

选择大尺寸 cTnITC 浓度和总复合物浓度为特征量进行联合分析，基于逻辑回归算法

构建特征参数，各特征量的系数由逻辑回归估计而得，从而得到特征参数的计算公式，即， $\text{Logit}(P) = 0.1722 * (\text{大尺寸 cTnITC 浓度}) + 0.0066 * (\text{总复合物浓度}) - 3.2247$ 。预测概率（特征参数 2）的计算方法为： $P = 1 / (1 + e^{-\text{logit}}) * 100\%$ 。

5 选择大尺寸 cTnITC 浓度和总 cTnITC 浓度为特征量进行联合分析，基于逻辑回归算法构建特征参数，各特征量的系数由逻辑回归估计而得，从而得到特征参数的计算公式，即， $\text{Logit}(P) = 0.1761 * (\text{大尺寸 cTnITC 浓度}) + 0.0608 * (\text{总 cTnITC 浓度}) - 3.2829$ 。预测概率（特征参数 3）的计算方法为： $P = 1 / (1 + e^{-\text{logit}}) * 100\%$ 。

10 选择大尺寸 cTnITC 浓度、总 cTnITC 浓度、总复合物和 cTnT 浓度为特征量进行联合分析，基于逻辑回归算法构建特征参数，各特征量的系数由逻辑回归估计而得，从而得到特征参数的计算公式，即， $\text{Logit}(P) = 0.1450 * (\text{大尺寸 cTnITC 浓度}) + 0.2588 * (\text{总 cTnITC 浓度}) + 0.0086 * (\text{总复合物浓度}) - 0.0160 * (\text{cTnT 浓度}) - 1.048$ 。预测概率（特征参数 4）的计算方法为： $P = 1 / (1 + e^{-\text{logit}}) * 100\%$ 。

15 其中特征参数1、特征参数2、特征参数3、特征参数4的曲线下面积AUC分别为0.880、0.809、0.803、0.899，具有较好的诊断效能，参见表4-2-5。根据约登指数最大值确定诊断最佳CUTOFF值分别，参见表4-2-6。

表4-2-5: 多浓度特征参数联合分析用于区分急性心肌梗死(1型)和慢性心脏事件的诊断效力

特征参数	ROC_AUC	标准误差	P	95%CI 下限	95%CI 上限
特征参数 1	0.880	0.043	0.000	0.796	0.964
特征参数 2	0.809	0.097	0.003	0.619	0.999
特征参数 3	0.803	0.091	0.003	0.625	0.981
特征参数 4	0.899	0.041	0.000	0.820	0.979

表 4-2-6: 多浓度特征参数联合分析 cutoff 值对应的灵敏度与特异性

特征参数	CUTOFF	敏感度	特异性	最大约登指数
特征参数 1	0.1165	0.889	0.800	0.689
特征参数 2	0.082	0.889	0.760	0.649
特征参数 3	0.094	0.778	0.840	0.618
特征参数 4	0.071	1.000	0.733	0.733



此外,其他浓度参数组合包括:总 cTnITC 浓度+总复合物浓度、总 cTnITC 浓度+cTnT 浓度、大尺寸 cTnITC 浓度+总 cTnITC 浓度+总复合物浓度、大尺寸 cTnITC 浓度+总 cTnITC 浓度+ cTnT 浓度、大尺寸 cTnITC 浓度+总复合物浓度+ cTnT 浓度、总 cTnITC 浓度+总复合物浓度+ cTnT 浓度采用上述方式进行联合用于区分急性心肌梗死(1型)和慢性心脏事件,均具有较好的诊断效能。该结果显示,大尺寸 cTnITC 浓度和总 cTnITC 浓度联合使用,或者至少两者之一与其他肌钙蛋白片段浓度联合分析用于区分急性心肌梗死(1型)和慢性心脏事件具有较好的性能。

5

分析将由多个心肌损伤标志物的比例参数组合得到的特征参数用于在肌钙蛋白 I 测值在 99 百分位至 5 倍 99 百分位之间的患者中区分急性心肌梗死(1型)与慢性心脏事件的诊断效力。心肌损伤标志物的比例参数包括大尺寸 cTnITC 浓度或总 cTnITC 浓度与总复合物浓度、cTnT 浓度或 cTnI 浓度的比例,即大尺寸 cTnITC 浓度/总复合物浓度、总 cTnITC 浓度/总复合物浓度、cTnT 浓度/总复合物浓度、大尺寸 cTnITC 浓度/cTnT 浓度、总 cTnITC 浓度/cTnT 浓度、大尺寸 cTnITC 浓度/cTnI 浓度、总 cTnITC 浓度/cTnI 浓度。

10

选择大尺寸 cTnITC 浓度/总复合物浓度、总 cTnITC 浓度/总复合物浓度和 cTnT 浓度/总复合物浓度为特征量进行联合分析,基于逻辑回归算法构建特征参数,各特征量的系数由逻辑回归估计而得,从而得到特征参数的计算公式,即,  $Logit(P) = 6.880 * (大尺寸 cTnITC 浓度/总复合物浓度) + 13.985 * (总 cTnITC 浓度/总复合物浓度) - 0.619 * (cTnT 浓度/总复合物浓度) - 1.201$ 。预测概率(特征参数 5)的计算方法为:  $P = 1 / (1 + e^{-logit}) * 100%$ 。

15

选择大尺寸 cTnITC 浓度/cTnT 浓度和总 cTnITC 浓度/cTnI 浓度为特征量进行联合分析,基于逻辑回归算法构建特征参数,各特征量的系数由逻辑回归估计而得,从而得到预测值计算公式,即,  $Logit(P) = 30.283 * (大尺寸 cTnITC 浓度/cTnT 浓度) + 68.804 * (总 cTnITC 浓度/cTnI 浓度) - 4.519$ 。预测概率(特征参数 6)的计算方法为:  $P = 1 / (1 + e^{-logit}) * 100%$ 。

20

其中特征参数 5、特征参数 6 的曲线下面积 AUC 分别为 0.875、0.854,具有较好的诊断效能,参见表 4-2-7。根据约登指数最大值确定诊断最佳 CUTOFF 值,参见表 4-2-8。

25

表 4-2-7: 多比例参数联合分析用于区分急性心肌梗死(1型)和慢性心脏事件的诊断效力

特征参数	ROC_AUC	标准误差	P	95%CI 下限	95%CI 上限
特征参数 5	0.875	0.068	0.000	0.742	1.000
特征参数 6	0.854	0.065	0.001	0.727	0.981

表 4-2-8: 多比例参数联合分析 cutoff 值对应的灵敏度与特异性

特征参数	CUTOFF	敏感度	特异性	最大约登指数
特征参数 5	0.1286	0.889	0.808	0.697
特征参数 6	0.1109	0.778	0.822	0.600

此外，其他比例参数组合包括大尺寸 cTnITC 浓度/总复合物浓度+总 cTnITC 浓度/总复合物浓度、大尺寸 cTnITC 浓度/总复合物浓度+ cTnT 浓度/总复合物浓度、总 cTnITC 浓度/总复合物浓度+cTnT 浓度/总复合物浓度、大尺寸 cTnITC 浓度/总复合物浓度+总 cTnITC 浓度/总复合物浓度+大尺寸 cTnITC 浓度/cTnT 浓度、大尺寸 cTnITC 浓度/总复合物浓度+总 cTnITC 浓度/总复合物浓度+总 cTnITC 浓度/cTnT 浓度采用上述方式进行联合用于区分急性心肌梗死（1 型）和慢性心脏事件，均具有较好的诊断效能。该结果显示，大尺寸 cTnITC 和其它肌钙蛋白片段比例和总 cTnITC 和其它肌钙蛋白片段比例之间联合，或者至少两者之一与其他肌钙蛋白片段之间的比例联合用于区分急性心肌梗死（1 型）和慢性心脏事件具有较好的性能。

以上数据表明，大尺寸 cTnITC 浓度或总 cTnITC 浓度，特别是大尺寸 cTnITC 浓度可以单独用于在肌钙蛋白 I 测值在 99 百分位至 5 倍 99 百分位之间的患者中区分急性心肌梗死（1 型）与慢性心脏事件。此外，大尺寸 cTnITC 浓度或总 cTnITC 浓度与总复合物浓度的比例、大尺寸 cTnITC 浓度或总 cTnITC 浓度与 cTnT 浓度的比例也可以用于区分急性心肌梗死（1 型）和慢性心脏事件，特别是大尺寸 cTnITC 浓度或总 cTnITC 浓度与 cTnT 浓度的比例或大尺寸 cTnITC 浓度与总复合物浓度的比例具有更好的诊断效能。联合使用多参数，比如大尺寸 cTnITC 浓度+总复合物浓度、大尺寸 cTnITC 浓度+cTnT 浓度、大尺寸 cTnITC 浓度+总 cTnITC 浓度、或大尺寸 cTnITC 浓度+总 cTnITC 浓度+总复合物浓度+cTnT 浓度的联合使用，或大尺寸 cTnITC 浓度/总复合物浓度、总 cTnITC 浓度/总复合物浓度、cTnT 浓度/总复合物浓度的联合使用或者大尺寸 cTnITC 浓度/cTnT 浓度、总 cTnITC 浓度/cTnT 浓度的联合使用，能够进一步提升诊断效能。

综合实施例 4-1 和 4-2 来看，实施例 4-2 是对实施例 4-1 的入组的患者中，肌钙蛋白轻度升高的患者中进行的二次分析。在实施例 4-2 中，研究发现，对于肌钙蛋白轻度升高的患者，基于大尺寸 cTnITC 浓度和/或总 cTnITC 浓度得到的特征参数，在急性心肌梗死（1 型）和慢性心脏事件上的诊断效能更优。优选的，大尺寸 cTnITC 浓度或基于其获得的特征参数具有更好的诊疗效能。另外，总 cTnITC 浓度和 cTnT 浓度的比例，或基于其获得的特征参数也具有良好的诊疗效能。

实施例 5. 区分有创操作导致心肌损伤与慢性心脏事件

1. 患者入组

(1) 有创操作患者组:

5 选择接受有创治疗的患者入组，患者年龄大于或等于 18 岁。接受冠状动脉旁路移植术 (CABG) 或心脏瓣膜置换术的患者作为外科手术组。确诊为心肌梗死并接受经皮冠状动脉介入治疗 (PCI) 的患者被纳入介入手术组。排除年龄小于 18 岁的患者；排除怀孕的女性患者。采集有创治疗前的肝素锂血浆样本和有创治疗之后的首次肝素锂血浆样本进行分析。术后总复合物水平升高且高于性别特异性第 99 百分位值参考上限 (URL) 的患者纳入后续分析。患者的入组流程见图 18。

(2) 慢性心脏事件患者组:

10 选择入院诊断及最终诊断为慢性心力衰竭、心肌病或肺炎的患者入组，患者年龄大于或等于 18 岁。如果最终诊断不是慢性心力衰竭、心肌病或肺炎，则排除患者。如果患者同时被诊断为急性心肌梗死，则排除患者。排除年龄小于 18 岁的患者；排除怀孕的女性患者。心肌病、慢性心力衰竭、肺炎由医院临床医生独立判定。急性心肌梗死由医院心脏病专家根据急性心肌梗死的定义独立裁定。收集这些患者入院后的首次肝素锂血浆样本，用于肌钙蛋白复合物及片段组成分析。患者的入组流程见图 19。

15 记录患者信息，患者信息包含：年龄、性别、既往病史、高血压、糖尿病、是否吸烟、肌酐、肾小球过滤率。选择符合入组标准的样本进行相关标志物测试。共纳入经历有创治疗患者 82 例，其中经历外科手术患者 48 例，经历介入治疗患者 34 例；慢性心脏事件患者 145 例。患者信息见表 5-1。

20

表5-1：入组患者特征

有创治疗	外科手术	介入手术
全部患者例数	n= 48	n= 34
年龄	60 (53.3-66.0)	62 (50.0-69.3)
男性	32 (48%)	27 (79%)
近期吸烟	7 (15%)	9 (26%)
高血压	28 (58%)	21 (62%)
糖尿病	7 (15%)	11 (32%)
肌酐, mmol/L	81.5 (67.0-107.0)	90.0 (77.8-1034.3)
肾小球过滤率 eGFR (mL/min/1.73 m <sup>2</sup> )	82.0 (59.3-103.0)	80.5 (66.3-93.0)

有创治疗方式	CABG: 25 (52%) PCI: 34 (100%) 瓣膜置换术: 23 (48%)
慢性心脏事件	心肌病、慢性心力衰竭或肺炎
全部患者例数	n= 145
年龄	67 (57.0-75.0)
男性	92 (63%)
近期吸烟	4 (3%)
高血压	80 (55%)
糖尿病	34 (23%)
肌酐, mmol/L	86.0 (70.3-108.0)
肾小球过滤率 eGFR (mL/min/1.73 m <sup>2</sup> )	77.0 (56.8-95.3)

注：连续变量呈现为中值（25-75%四分位）；分类变量呈现为数字（百分比）

## 2. 有创操作导致心肌损伤与慢性心脏事件肌钙蛋白组成片段及复合物分析

5 样本入组后，使用迈瑞化学发光仪及配套试剂测试样本中的肌钙蛋白标志物，包括肌钙蛋白总复合物、大尺寸 cTnITC、总 cTnITC 和 cTnT。分析有创操作导致心肌损伤的患者和患有慢性心脏事件患者的肌钙蛋白组成差异。患者血液中总复合物、大尺寸 cTnITC、总 cTnITC、cTnT 和 cTnI 的浓度见表 5-2。其中 cTnI 试剂盒和总复合物试剂盒的测值类似，两者在临床上有一定的等效性。

表5-2：总复合物、大尺寸cTnITC、总cTnITC、cTnT和cTnI在有创操作导致心肌损伤与慢性心脏事件的患者中的浓度

心肌损伤原因	外科手术	介入手术	慢性心脏事件
总复合物 (10 <sup>-2</sup> pmol/L)	3466.3 (747.1-9631.4)	4801.3 (647.1-29650.8)	17.8 (7.4-47.3)
大尺寸cTnITC (10 <sup>-2</sup> pmol/L)	361.0 (67.1-9631.4)	364.4 (15.1-5522.9)	0.6 (0.2-1.3)
总cTnITC (10 <sup>-2</sup> pmol/L)	1557.6 (270.6-4246.2)	1086.7 (26.6-14518.6)	2.9 (1.2-4.9)
cTnT	4602.5	6042.0	189.2

(10 <sup>-2</sup> pmol/L)	(1311.7-9188.2)	(954.7-36662.3)	(102.2-339.7)
cTnI	3570.3	4551.3	19.5
(10 <sup>-2</sup> pmol/L)	(846.7-9450.8)	(637.3-33360.1)	(8.0-55.3)

注：数值显示为中值（25-75%四分位距）。

图20显示了有创治疗导致心肌损伤患者与慢性心脏事件患者的肌钙蛋白复合物和片段的比例关系，包括大尺寸cTnITC浓度与总复合物浓度的比例、总cTnITC浓度与总复合物浓度的比例、cTnT浓度与总复合物浓度的比例、大尺寸cTnITC浓度与cTnT浓度的比例、总cTnITC浓度与cTnT浓度的比例。其中大尺寸cTnITC浓度与总复合物浓度的比例、总cTnITC浓度与总复合物浓度的比例、大尺寸cTnITC浓度与cTnT浓度的比例、总cTnITC浓度与cTnT浓度的比例在有创治疗导致心肌损伤患者中较高，在慢性心脏事件患者中较低；cTnT浓度与总复合物浓度的比例在慢性心脏事件患者中较高，在有创治疗导致心肌损伤患者中较低。

10 肌钙蛋白复合物和片段的浓度，以及它们之间的比例与损伤类型相关。对不同肌钙蛋白复合物的特异性检测有助于区分和诊断慢性心脏事件和有创治疗导致的心肌损伤。

3. 心肌损伤用于区分有创操作导致心肌损伤和慢性心脏事件的诊断效力

表5-3示出所使用的心肌损伤标志物的诊断效力。该实施例中患者经历有创治疗导致心肌损伤，或患有慢性心脏事件，慢性心脏事件患者患有心肌病、慢性心力衰竭或者肺炎，患者样本中肌钙蛋白复合物的浓度高于第99百分位值参考上限。

20 其中总复合物浓度、大尺寸cTnITC浓度、总cTnITC浓度、cTnT浓度、cTnI浓度、大尺寸cTnITC浓度与总复合物浓度的比例、总cTnITC浓度与总复合物浓度的比例、cTnT浓度与总复合物浓度的比例、大尺寸cTnITC浓度与cTnT浓度的比例、总cTnITC浓度与cTnT浓度的比例、大尺寸cTnITC浓度与cTnI浓度的比例的P值均小于0.05，表明变量具有显著性。其中大尺寸cTnITC浓度的曲线下面积AUC为0.952，总cTnITC浓度的曲线下面积AUC为0.940，总cTnITC浓度与cTnT浓度的比例的AUC为0.913，具有较好的诊断效能。该结果显示，相比于单独使用总复合物、cTnT或cTnI的浓度，基于大尺寸cTnITC或总cTnITC的浓度获得的特征参数能够更有效地区分有创操作导致心肌损伤和慢性心脏事件，其中，大尺寸cTnITC或总cTnITC的浓度具有良好的诊疗效力。

25 表5-3：浓度和浓度比例特征参数用于区分有创操作导致心肌损伤和慢性心脏事件的诊断效力

特征参数	ROC_AUC	标准误差	P	95%CI 下 限	95%CI 上 限
------	---------	------	---	--------------	--------------

总复合物浓度	0.928	0.022	0.000	0.885	0.971
大尺寸 cTnITC 浓度	0.952	0.015	0.000	0.922	0.982
总 cTnITC 浓度	0.940	0.021	0.000	0.898	0.981
cTnT 浓度	0.907	0.027	0.000	0.854	0.961
cTnI 浓度	0.929	0.022	0.000	0.886	0.971
大尺寸 cTnITC 浓度/总复合物浓度	0.841	0.034	0.000	0.774	0.907
总 cTnITC 浓度/总复合物浓度	0.854	0.032	0.000	0.791	0.917
cTnT 浓度/总复合物浓度	0.828	0.038	0.000	0.753	0.903
大尺寸 cTnITC 浓度/cTnT 浓度	0.892	0.028	0.000	0.837	0.947
总 cTnITC 浓度/cTnT 浓度	0.913	0.025	0.000	0.864	0.962
大尺寸 cTnITC 浓度/cTnI 浓度	0.836	0.035	0.000	0.768	0.904

使用特征参数的不同cutoff值对应的灵敏度与特异性计算约登指数,根据约登指数最大值确定诊断最佳CUTOFF值,参见表5-4。

表5-4: 浓度和浓度比例特征参数用于区分有创操作导致心肌损伤和慢性心脏事件的cutoff值及对应的灵敏度与特异性

特征参数	CUTOFF	敏感度	特异性	最大约登指数
总复合物浓度	256.2	0.914	0.855	0.768
大尺寸 cTnITC 浓度	22.5	0.852	0.919	0.771
总 cTnITC 浓度	35.4	0.877	0.968	0.844
cTnT 浓度	951.1	0.827	0.903	0.730
cTnI 浓度	292.6	0.914	0.855	0.768
大尺寸 cTnITC 浓度/总复合物浓度	0.0485	0.765	0.823	0.588
总 cTnITC 浓度/总复合物浓度	0.2145	0.765	0.919	0.685

cTnT 浓度/总复合物浓度	2.8950	0.774	0.841	0.616
大尺寸 cTnITC 浓度 /cTnT 浓度	0.0245	0.815	0.871	0.686
总 cTnITC 浓度/cTnT 浓度	0.0455	0.827	0.968	0.795
大尺寸 cTnITC 浓度 /cTnI 浓度	0.0505	0.741	0.855	0.596

4. 多个心肌损伤标志物的浓度参数联合用于区分有创操作导致心肌损伤和慢性心脏事件的诊断效力

心肌损伤标志物的浓度参数包括肌钙蛋白复合物和片段的浓度，即总复合物浓度、大尺寸cTnITC浓度、总cTnITC浓度、cTnT浓度、cTnI浓度。该实施例中患者经历有创治疗导致心肌损伤，或患有慢性心脏事件，慢性心脏事件患者患有心肌病、慢性心力衰竭或者肺炎，患者样本中肌钙蛋白复合物的浓度高于第99百分位值参考上限。

5 选择大尺寸cTnITC浓度和cTnT浓度为特征量进行联合分析，基于逻辑回归算法构建特征参数，各特征量的系数由逻辑回归估计而得，从而得到特征参数的计算公式，即， $\text{Logit}(P) = 0.0417 * (\text{大尺寸cTnITC浓度}) - 0.0001 * (\text{cTnT浓度}) - 1.346$ 。预测概率（特征参数1）的计算方法为： $P = 1 / (1 + e^{-\text{logit}}) * 100\%$ 。

10 选择大尺寸cTnITC浓度+和总复合物浓度为特征量进行联合分析，基于逻辑回归算法构建特征参数，各特征量的系数由逻辑回归估计而得，从而得到特征参数的计算公式，即， $\text{Logit}(P) = 0.0522 * (\text{大尺寸cTnITC浓度}) - 0.0009 * (\text{总复合物浓度}) - 1.2682$ 。预测概率（特征参数2）的计算方法为： $P = 1 / (1 + e^{-\text{logit}}) * 100\%$ 。

15 选择大尺寸cTnITC浓度和总cTnITC浓度为特征量进行联合分析，基于逻辑回归算法构建特征参数，各特征量的系数由逻辑回归估计而得，从而得到特征参数的计算公式，即， $\text{Logit}(P) = 0.0217 * (\text{大尺寸cTnITC浓度}) + 0.0040 * (\text{总cTnITC浓度}) - 1.3428$ 。预测概率（特征参数3）的计算方法为： $P = 1 / (1 + e^{-\text{logit}}) * 100\%$ 。

20 选择大尺寸cTnITC浓度和总cTnITC浓度+总复合物+cTnT浓度为特征量进行联合分析，基于逻辑回归算法构建特征参数，各特征量的系数由逻辑回归估计而得，从而得到特征参数的计算公式，即， $\text{Logit}(P) = 0.0375 * (\text{大尺寸cTnITC浓度}) + 0.0053 * (\text{总cTnITC浓度}) - 0.0007 * (\text{总复合物浓度}) - 0.0001 * (\text{cTnT浓度}) - 1.3256$ 。预测概率（特征参数4）的计算方法为： $P = 1 / (1 + e^{-\text{logit}}) * 100\%$ 。

其中特征参数1、特征参数2、特征参数3、特征参数4的曲线下面积AUC分别为0.940、0.921、0.955，0.937，具有较好的诊断效能，参见表5-5)。根据约登指数最大值确定诊断最佳CUTOFF值分别为0.4163、0.3081、0.3169、0.2827，参见表5-6。

表5-5：多浓度参数联合分析用于区分有创操作导致心肌损伤和慢性心脏事件的诊断效力

特征参数	ROC_AUC	标准误差	P	95%CI 下限	95%CI 上限
特征参数 1	0.940	0.018	0.000	0.905	0.975
特征参数 2	0.921	0.024	0.000	0.874	0.968
特征参数 3	0.955	0.016	0.000	0.923	0.986
特征参数 4	0.937	0.021	0.000	0.896	0.979

表5-6：多浓度参数联合分析cutoff值对应的灵敏度与特异性

特征参数	CUTOFF	敏感度	特异性	最大约登指数
特征参数 1	0.4163	0.817	0.952	0.769
特征参数 2	0.3081	0.866	0.903	0.769
特征参数 3	0.3169	0.878	0.935	0.814
特征参数 4	0.2827	0.890	0.903	0.793

此外，其他浓度参数组合包括：总cTnITC浓度+总复合物浓度、总cTnITC浓度+cTnT浓度、大尺寸cTnITC浓度+总cTnITC浓度+总复合物浓度、大尺寸cTnITC浓度+总cTnITC浓度+cTnT浓度、大尺寸cTnITC浓度+总复合物浓度+cTnT浓度、总cTnITC浓度+总复合物浓度+cTnT浓度采用上述方式进行联合用于区分有创操作导致心肌损伤和慢性心脏事件，均具有较好的诊断效能。该结果显示，大尺寸cTnITC浓度或总cTnITC浓度与其他肌钙蛋白片段浓度联合分析用于区分有创操作导致心肌损伤和慢性心脏事件具有较好的性能。

5. 多个心肌损伤标志物的比例参数联合用于区分有创操作导致心肌损伤和慢性心脏事件的诊断效力

心肌损伤标志物的比例参数包括大尺寸cTnITC浓度与总复合物、总cTnITC浓度与总复合物浓度的比例、cTnT浓度与总复合物浓度的比例、大尺寸cTnITC浓度与cTnT浓度的比例、总cTnITC浓度与cTnT浓度的比例、大尺寸cTnITC浓度与cTnI浓度的比例、总cTnITC浓度与cTnI浓度的比例。该实施例中患者经历有创治疗导致心肌损伤，或患有慢性



心脏事件，慢性心脏事件患者患有心肌病、慢性心力衰竭或者肺炎，患者样本中肌钙蛋白复合物的浓度高于第99百分位值参考上限。

5 选择大尺寸cTnITC浓度/总复合物浓度、总cTnITC浓度/总复合物浓度和 cTnT浓度/总复合物浓度为特征量进行联合分析，基于逻辑回归算法构建特征参数，各特征量的系数由逻辑回归估计而得，从而得到特征参数的计算公式，即， $\text{Logit}(P) = 4.775 * (\text{大尺寸cTnITC浓度/总复合物浓度}) + 10.015 * (\text{总cTnITC浓度/总复合物浓度}) - 0.413 * (\text{cTnT浓度/总复合物浓度}) - 0.251$ 。预测概率（特征参数5）的计算方法为： $P = 1 / (1 + e^{-\text{logit}}) * 100\%$ 。

10 选择大尺寸cTnITC浓度/cTnT浓度、总cTnITC浓度/cTnT浓度为特征量进行联合分析，基于逻辑回归算法构建特征参数，各特征量的系数由逻辑回归估计而得，从而得到特征参数的计算公式。 $\text{Logit}(P) = 9.933 * (\text{大尺寸cTnITC浓度/cTnT浓度}) + 40.395 * (\text{总cTnITC浓度/cTnT浓度}) - 2.094$ 。预测概率（特征参数6）的计算方法为： $P = 1 / (1 + e^{-\text{logit}}) * 100\%$ 。

其中特征参数5、特征参数6的曲线下面积AUC分别为0.926、0.921，具有较好的诊断效能，参见表5-7。根据约登指数最大值确定诊断最佳CUTOFF值分别为0.6594、0.6053，参见表5-8。

15 表5-7：多比例参数联合分析用于区分有创操作导致心肌损伤和慢性心脏事件的诊断效力

特征参数	ROC_AUC	标准误差	P	95%CI 下限	95%CI 上限
特征参数 5	0.926	0.023	0.000	0.882	0.971
特征参数 6	0.921	0.023	0.000	0.876	0.966

表5-8：多比例参数联合分析cutoff值对应的灵敏度与特异性

特征参数	CUTOFF	敏感度	特异性	最大约登指数
特征参数 5	0.6594	0.790	1.000	0.790
特征参数 6	0.6053	0.815	0.968	0.783

20 此外，其他比例参数组合包括大尺寸cTnITC浓度/总复合物浓度+总cTnITC浓度/总复合物浓度、大尺寸cTnITC浓度/总复合物浓度+ cTnT浓度/总复合物浓度、总cTnITC浓度/总复合物浓度+cTnT浓度/总复合物浓度、大尺寸cTnITC浓度/总复合物浓度+总cTnITC浓度/总复合物浓度+大尺寸cTnITC浓度/cTnT浓度、大尺寸cTnITC浓度/总复合物浓度+总cTnITC浓度/总复合物浓度+总cTnITC浓度/cTnT浓度采用上述方式进行联合用于区分有创操作导致心肌损伤和慢性心脏事件，均具有较好的诊断效能。该结果显示，大尺寸cTnITC  
25 和其它肌钙蛋白片段比例和总cTnITC和其它肌钙蛋白片段比例联合，以及至少两者之一与

其他肌钙蛋白片段之间的比例联合，用于区分有创操作导致心肌损伤和慢性心脏事件具有较好的性能。

以上数据表明，大尺寸cTnITC浓度或总cTnITC浓度可以单独用于区分有创操作导致心肌损伤和慢性心脏事件。大尺寸cTnITC浓度或总cTnITC浓度与总复合物浓度的比例、大尺寸cTnITC浓度或总cTnITC浓度与cTnT浓度的比例和大尺寸cTnITC浓度或总cTnITC浓度与cTnI浓度的比例也可以用于区分有创操作导致心肌损伤和慢性心脏事件。联合使用多参数，比如大尺寸cTnITC浓度+总复合物浓度、大尺寸cTnITC浓度+cTnT浓度、大尺寸cTnITC浓度+总cTnITC浓度、或大尺寸cTnITC浓度+总cTnITC浓度+总复合物浓度+cTnT浓度的联合使用，或大尺寸cTnITC浓度/总复合物浓度、总cTnITC浓度/总复合物浓度、cTnT浓度/总复合物浓度的联合使用或者大尺寸cTnITC浓度/cTnT浓度、总cTnITC浓度/cTnT浓度的联合使用，也可以用于区分有创操作导致心肌损伤和慢性心脏事件。虽然不希望受理论约束，可能大尺寸cTnITC浓度或基于其获得的特征参数更适合用于区分有创操作导致心肌损伤和慢性心脏事件。

## 15 实施例6 评估急性心肌损伤预后

本实施例分为接受心脏手术患者中发生急性心肌损伤的预后和发生心肌梗塞患者中发生急性心肌损伤的预后，这两部分来说明本申请的标志物在急性心肌损伤的预后中的应用。

### (一)外科手术部分

#### 1. 患者入组及随访方法

20 纳入接受心脏外科手术的入组，患者年龄大于或等于18岁。心脏外科手术包括(1)冠状动脉旁路移植术(CABG)或(2)心脏瓣膜置换术。排除年龄小于18岁的患者；排除怀孕的女性患者。采集有创治疗前的肝素锂血浆样本和有创治疗之后(48小时内)的肝素锂血浆样本进行分析。患者的入组流程见图21。

25 记录患者信息，患者信息包含：年龄、性别、既往病史、肾小球过滤率等。选择符合入组标准的样本进行相关标志物测试。本研究共纳入经历心脏外科手术患者311例，其中接受冠状动脉旁路移植术的患者133例，接受心脏瓣膜置换术的患者178例。患者信息见表6-1。

表6-1：入组患者特征

急性心肌损伤	外科手术患者
全部患者例数	n= 311
年龄	61 (55 - 68)
男性	186 (60%)
肌酐, mmol/L	83 (66 - 104)
肾小球过滤率 eGFR (mL/min/1.73 m <sup>2</sup> )	83 (63 - 94)

其中连续变量呈现为中值（25-75%四分位）；分类变量呈现为数字（百分比）

本研究对患者进行为期3个月和1年的随访，可进行诊室随访、电话随访和（或）电子病历收集，记录关于临床事件的信息。主要临床事件包括全因死亡、心肌梗死及计划外冠脉血运重建的复合事件。次要临床事件包括：心血管死亡、主要临床事件的各组成部分、卒中、心衰住院或急诊留观 24 小时及以上、心脏骤停或恶性心律失常和其他因心血管疾病住院事件，以及上述事件的不同组合复合终点。

### 3. 肌钙蛋白片段及复合物对于患者预后风险的预测能力评估

本研究中，共纳入心脏外科手术患者311例，其中133例（43%）接受冠状动脉旁路移植术。患者术后3个月内总死亡率为0.6%（2/311），发生死亡及心血管不良事件的复合终点事件发生率为5.1%（16/311）。患者术后1年内总死亡率为1.0%（3/311），发生死亡及心血管不良事件的复合终点事件发生率为7.7%（24/311）。

通过ROC曲线分析，评估肌钙蛋白复合物和片段标志物用于预测患者预后风险的效能（表6-2）。预测事件为患者术后1年内发生死亡及心血管不良事件的复合终点事件。变量包括手术后24小时内的肌钙蛋白总复合物浓度、大尺寸cTnITC浓度、总cTnITC浓度、cTnT浓度。

其中总复合物浓度、大尺寸cTnITC浓度、总cTnITC浓度、cTnT浓度的P值均小于0.05，表明变量具有显著性。其中总复合物浓度、大尺寸cTnITC绝对浓度的曲线下面积AUC为0.765，总cTnITC绝对浓度的曲线下面积AUC为0.771，表明其对患者一年内的心血管不良

事件及死亡事件具有一定的预测能力。该结果显示,肌钙蛋白总复合物浓度、大尺寸cTnITC浓度、总cTnITC浓度、cTnT浓度能够评估患者预后风险。

表6-2: 肌钙蛋白复合物和片段标志物用于预测患者预后风险的能力评估

标志物参数	ROC_AUC	标准误	P	95%CI 下限	95%CI 上限
总复合物浓度	0.765	0.040	0.000	0.687	0.843
大尺寸 cTnITC 浓度	0.765	0.042	0.000	0.682	0.848
总 cTnITC 浓度	0.771	0.041	0.000	0.691	0.852
cTnT 浓度	0.776	0.041	0.000	0.696	0.856

5 使用肌钙蛋白总复合物浓度、大尺寸cTnITC浓度、总cTnITC浓度、cTnT浓度作为标志物的不同CUTOFF值对应的灵敏度与特异性计算约登指数,保证较高的灵敏度和特异性,根据约登指数最大确定最佳CUTOFF值(表6-3)。总复合物浓度高于6848.6 ng/L时,预测敏感度66.7%,特异度69.3%;大尺寸cTnITC浓度高于1001.0 ng/L时,预测敏感度71.4%,特异度78.7%;总cTnITC浓度高于1897.1 ng/L时,预测敏感度81.0%,特异度65.5%;cTnT浓度高于738.9 ng/L时,预测敏感度66.7%,特异度76.0%。

10 表6-3: 肌钙蛋白复合物和片段标志物用于预测患者预后风险的cutoff值对应的灵敏度与特异性

	≥ CUTOFF (ng/L)	敏感度	特异性	约登指数
总复合物浓度	6848.6	0.667	0.693	0.360
大尺寸 cTnITC 浓度	1001.0	0.714	0.787	0.502
总 cTnITC 浓度	1897.1	0.810	0.655	0.465
cTnT 浓度	738.9	0.667	0.760	0.426

15 此外,还计算患者手术后与手术前相比,肌钙蛋白片段及复合物的差值(术后浓度-术前浓度)及变化倍数(术后浓度/术前浓度),用于预测患者预后风险(表6-4)。变量包括肌钙蛋白总复合物浓度(术后-术前)、大尺寸cTnITC浓度(术后-术前)、总cTnITC浓度(术后-术前)、cTnT浓度(术后-术前)以及总复合物(术后/术前)、大尺寸cTnITC(术后/术前)、总cTnITC(术后/术前)、cTnT(术后/术前)。

其中总复合物、大尺寸cTnITC、总cTnITC、cTnT术后与术前浓度差值，以及大尺寸cTnITC、总cTnITC、cTnT术后与术前浓度比值的P值均小于0.05，表明变量具有显著性。其中大尺寸cTnITC（术后-术前）的曲线下面积AUC为0.759，总cTnITC（术后-术前）的曲线下面积AUC为0.774，大尺寸cTnITC(术后/术前)的曲线下面积AUC为0.663，总cTnITC（术后/术前）的曲线下面积AUC为0.660，表明其对患者一年内的心血管不良事件及死亡事件具有预测能力。该结果显示，总复合物、大尺寸cTnITC、总cTnITC、cTnT，其在术后与术前的差值或者变化倍数能够评估患者预后风险，预测接受心脏病手术的患者在术后发生心肌损伤的风险。

表6-4: 肌钙蛋白复合物和片段术后与术前的浓度差值及变化倍数用于预测患者预后风险的能力评估

标志物参数	ROC_AUC	标准误	P	95%CI 下限	95%CI 上限
总复合物（术后-术前）	0.770	0.042	0.000	0.688	0.851
大尺寸 cTnITC(术后-术前)	0.759	0.046	0.000	0.668	0.850
总 cTnITC（术后-术前）	0.774	0.044	0.000	0.688	0.860
cTnT（术后-术前）	0.777	0.044	0.000	0.690	0.863
总复合物（术后/术前）	0.623	0.049	0.073	0.528	0.719
大尺寸 cTnITC(术后/术前)	0.663	0.054	0.018	0.557	0.768
总 cTnITC（术后/术前）	0.660	0.058	0.020	0.547	0.773
cTnT（术后/术前）	0.641	0.057	0.040	0.529	0.753

使用总复合物、大尺寸cTnITC、总cTnITC、cTnT，术后与术前的浓度差值及变化倍数作为参数的不同CUTOFF值对应的灵敏度与特异性计算约登指数，保证较高的灵敏度和特异性，根据约登指数最大确定最佳CUTOFF值（表6-5）。术后较术前大尺寸cTnITC浓度升高大于1008.0 ng/L时，预测敏感度68.4%，特异度77.8%；总cTnITC浓度升高大于1896.6 ng/L时，预测敏感度84.2%，特异度65.4%；术后较术前大尺寸cTnITC浓度升高大于3320倍时，预测敏感度63.2%，特异度67.3%；总cTnITC浓度升高大于970倍时，预测敏感度63.2%，特异度55.3%。

表6-5: 肌钙蛋白复合物和片段术后与术前的浓度差值及变化倍数用于预测患者预后风险的cutoff值对应的灵敏度与特异性

	≥ CUTOFF	敏感度	特异性	约登指数
--	----------	-----	-----	------

总复合物（术后-术前）	6841.2 ng/L	0.684	0.693	0.377
大尺寸 cTnITC（术后-术前）	1008.0 ng/L	0.684	0.778	0.462
总 cTnITC（术后-术前）	1896.6 ng/L	0.842	0.654	0.496
cTnT（术后-术前）	779.5 ng/L	0.684	0.763	0.447
总复合物（术后/术前）	522	0.684	0.514	0.198
大尺寸 cTnITC（术后/术前）	3320	0.632	0.673	0.305
总 cTnITC（术后/术前）	970	0.632	0.553	0.184
cTnT（术后/术前）	35	0.632	0.514	0.145

#### 4. 肌钙蛋白片段浓度的联合分析对于患者预后风险的预测能力评估

使用标志物的多参数联合分析用于患者预后风险的预测。参数包括肌钙蛋白复合物和片段的浓度术后与术前浓度的差值（术后浓度-术前浓度）和比值（术后浓度/术前浓度）。

以大尺寸cTnITC浓度+cTnT浓度为例，进行联合分析，基于逻辑回归算法构建组合预测参数，各特征量的系数由逻辑回归估计而得。输出预测值计算公式。 $\text{Logit}(P) = 0.0002 * (\text{大尺寸cTnITC浓度}) + 0.0002 * (\text{cTnT浓度}) - 3.103$ 。预测概率（预测参数1）的计算方法为： $P = 1 / (1 + e^{-\text{logit}}) * 100\%$

通过ROC曲线分析，预测参数1的P值小于0.05，表明变量具有显著性。曲线下面积AUC为0.789，与使用单一标志物相比，诊断效能轻微提升（表6-6）。

10 表6-6: 肌钙蛋白绝对浓度的多参数联合分析用于预测患者预后风险

标志物参数	ROC_AUC	标准误	P	95%CI 下限	95%CI 上限
预测参数 1	0.789	0.041	0.000	0.709	0.869

此外，其他组合包括大尺寸cTnITC+总复合物、大尺寸cTnITC+总cTnITC、总cTnITC+总复合物、总cTnITC+cTnT、大尺寸cTnITC+总cTnITC+总复合物、大尺寸cTnITC+总cTnITC+ cTnT、大尺寸cTnITC+总复合物+ cTnT、总cTnITC+总复合物+cTnT的浓度、术后与术前浓度差值或比值等也用于患者预后风险的评估。该结果显示，大尺寸cTnITC与其他肌钙蛋白片段联合分析可以用于预测患者预后风险。

#### 5. 不同肌钙蛋白片段浓度组的复合终点事件发生风险

以术后肌钙蛋白浓度值为例，按照术后肌钙蛋白浓度将患者分为不同亚组：组1“<中位浓度”、组2“中位浓度 - 75百分位浓度”、组3“> 75百分位浓度”。各标志物对应的亚组浓度见表6-7。

表6-7：不同肌钙蛋白片段及复合物浓度组对应浓度范围

标志物参数	组 1	组 2	组 3
总复合物 (ng/L)	≤ 2964	2964 – 9605	> 9605
大尺寸 cTnITC (ng/L)	≤ 371	371 – 997	> 997
总 cTnITC (ng/L)	≤ 956	956 – 4220	> 4220
cTnT (ng/L)	≤ 354	354 – 809	> 809

5 利用二分类Logistic回归分析，分析不同钙蛋白片段及复合物浓度组的患者复合终点事件发生的风险（表6-8）。二分类Logistic回归分析，用于分析标志物参数与主要终点事件发生的相关性。P值<0.05认为该变量具有显著性。

10 分析发现，总复合物组2、组3 P值小于0.05，OR值分别为10.0和11.5；大尺寸cTnITC组3 P值小于0.05，OR值为11.6；总cTnITC组2、组3 P值小于0.05，OR值分别为8.8和12.1；cTnT组2、组3 P值小于0.05，OR值分别为4.2和8.9；以上结果表明，总复合物浓度高于2964 ng/L，大尺寸cTnITC浓度高于997 ng/L，总cTnITC浓度高于956 ng/L，cTnT浓度高于354 ng/L是患者发生复合终点事件的危险因素。

表 6-8：不同肌钙蛋白片段浓度组复合终点事件的发生风险

标志物参数	浓度分组	P 值	OR	95%CI 下限	95%CI 上限
总复合物	组 1	—	1		
	组 2	0.004	10.043	2.114	47.712
	组 3	0.002	11.493	2.451	53.879
大尺寸 cTnITC	组 1	—	1		
	组 2	0.389	2.041	0.402	10.355
	组 3	0.000	11.615	3.251	41.495
总 cTnITC	组 1	—	1		
	组 2	0.007	8.812	1.823	42.583
	组 3	0.001	12.116	2.615	56.137
cTnT	组 1	—	1		

	组 2	0.045	4.254	1.034	17.497
	组 3	0.001	8.882	2.428	32.499

利用COX回归，分析不同钙蛋白片段及复合物浓度组的患者复合终点事件发生的风险（表6-9），并绘制不同患者组的生存曲线（图22）。Cox比例风险模型用于确定标志物参数或它们的组合与研究受试者结局的关系，根据Cox比例风险模型计算风险比(HR)，用于分析标志物参数值不同风险组的风险水平，相比基准组发生终点事件的风险的倍数。P值<0.05认为该变量具有显著性。

分析发现，总复合物组 2（中位浓度 -75 百分位浓度，2964–9605 ng/L）、组 3（>75 百分位浓度 9605 ng/L）P 值小于 0.05，HR 值分别为 8.0、9.63；大尺寸 cTnITC 组 3（>75 百分位浓度 997 ng/L）P 值小于 0.05，HR 值为 9.9；总 cTnITC 组 2（中位浓度 -75 百分位浓度，956–4220 ng/L）、组 3（>75 百分位浓度 4220 ng/L）P 值小于 0.05，HR 值分别为 7.8、10.1；cTnT 组 3（>75 百分位浓度 809 ng/L）P 值小于 0.05，HR 值 7.2。以上结果表明，总复合物浓度高于 2964 ng/L，大尺寸 cTnITC 浓度高于 997 ng/L，总 cTnITC 浓度高于 956 ng/L，以及 cTnT 浓度高于 809 ng/L 是患者发生复合终点事件的危险因素。

表 6-9：不同肌钙蛋白片段浓度组复合终点事件的发生风险(COX 回归分析)

标志物参数	浓度分组	P 值	HR	95%CI 下限	95%CI 上限
总复合物	组 1	—	1		
	组 2	0.008	8.050	1.722	37.634
	组 3	0.004	9.638	2.093	44.391
大尺寸 cTnITC	组 1	—	1		
	组 2	0.447	1.862	0.375	9.244
	组 3	0.000	9.856	2.818	34.472
总 cTnITC	组 1	—	1		
	组 2	0.010	7.768	1.641	36.787
	组 3	0.003	10.143	2.227	46.195
cTnT	组 1	—	1		
	组 2	0.068	3.650	0.908	14.667
	组 3	0.002	7.190	2.009	25.739

以上数据显示，大尺寸 cTnITC 或总 cTnITC，优选大尺寸 cTnITC 可以用于接受心脏手术患者术后心肌损伤的预后，且分组的数据也显示，该标志物的浓度越高，风险越高，



预后越差。

## (二)心肌梗死部分

### 1. 患者入组及随访方法

- 5 急性心肌梗死（1型）患者入组，选择入院诊断及最终诊断为1型急性心肌梗死的患者入组，患者年龄大于或等于18岁。急性心肌梗死由医院心脏病专家根据急性心肌梗死的定义独立裁定。通过临床检查，包括体格检查、超声心动图、心电图记录、高敏肌钙蛋白I检测、高敏肌钙蛋白T检测和冠状动脉造影等完成急性心肌梗死的裁定。如果最终诊断不是急性心肌梗死或诊断信息不完整，则排除患者。排除年龄小于18岁的患者；排除怀孕的女性患者。收集这些患者就诊时、介入治疗前的首次肝素锂血浆样本，用于肌钙蛋白复合物及片段组成分析。患者的入组流程见图23。
- 10

记录患者信息，患者信息包含：年龄、性别、既往病史、肾小球过滤率等。选择符合入组标准的样本进行相关标志物测试。共纳入急性心肌梗死患者324例。患者信息见表6-10。

15 表6-10：入组患者特征

急性心肌损伤	急性心肌梗死
全部患者例数	n= 324
年龄	60 (53 - 69)
男性	255 (79%)
肌酐, mmol/L	85.0 (72.8-102.2)
肾小球过滤率 eGFR (mL/min/1.73 m <sup>2</sup> )	80.9 (64.3-93.1)

其中连续变量呈现为中值（25-75%四分位）；分类变量呈现为数字（百分比）

本研究对患者进行为期3个月和1年的随访，可进行诊室随访、电话随访和（或）电子病历收集，记录关于临床事件的信息。主要临床事件包括全因死亡、心肌梗死及计划外冠脉血运重建的复合事件。次要临床事件包括：心血管死亡、主要临床事件的各组成部分、

卒中、心衰住院或急诊留观 24 小时及以上、心脏骤停或恶性心律失常和其他因心血管疾病住院事件，以及上述事件的不同组合复合终点。

2. 肌钙蛋白片段及复合物对于患者预后风险的预测能力评估

5 本研究中，共纳入急性心肌梗死患者324例，患者出院3个月内总死亡率为0.6%(2/324)，发生死亡及心血管不良事件的复合终点事件发生率为6.5% (21/324)。患者出院1年内总死亡率为1.2%(4/324)，发生死亡及心血管不良事件的复合终点事件发生率为9.6% (31/324)。

按照肌钙蛋白浓度的中位数或25百分位将患者分为不同亚组，各肌钙蛋白片段或复合物对应的亚组浓度见表6-11。

表6-11：不同肌钙蛋白片段及复合物浓度组对应浓度范围

标志物参数	组 1	组 2
总复合物 (ng/L)	≤ 43.5	> 43.5
大尺寸 cTnITC (ng/L)	≤ 1.1	> 1.1
总 cTnITC (ng/L)	≤ 38.8	> 38.8
cTnT (ng/L)	≤ 136.8	> 136.8

10 利用COX回归，分析不同钙蛋白片段及复合物浓度组的患者复合终点事件发生的风险（表6-12），并绘制不同患者组的生存曲线（图24）。分析发现，大尺寸cTnITC 浓度 > 25百分位浓度 1.1 ng/L, P值小于0.05, HR值3.6; cTnT 浓度 > 中位浓度 136.8 ng/L, P值小于0.05, HR值2.2。以上结果表明，大尺寸cTnITC 和 cTnT浓度高是患者发生复合终点事件的危险因素。

15 表6-12：不同肌钙蛋白片段浓度组复合终点事件的发生风险(COX回归分析)

标志物参数	浓度分组	P 值	HR	95%CI 下限	95%CI 上限
总复合物	组 1	—	1		
	组 2	0.075	2.721	0.906	8.175
大尺寸 cTnITC	组 1	—	1		
	组 2	0.046	3.581	1.024	12.525
总 cTnITC	组 1	—	1		
	组 2	0.252	1.555	0.731	3.306
cTnT	组 1	—	1		

	组 2	0.049	2.163	0.998	4.685
--	-----	-------	-------	-------	-------

以上数据显示，大尺寸 cTnITC 可以用于心肌梗塞患者的心肌损伤的预后，且分组的数据也显示，该标志物的浓度越高，风险越高，预后越差。

#### 实施例7 评估慢性心脏损伤患者预后

5 本实施例说明本申请的标志物在慢性心肌损伤，例如慢性心力衰竭或心肌病患者的肌损伤预后中的应用。

##### 1. 患者入组及随访方法

慢性心脏事件患者入组，选择入院诊断及最终诊断为慢性心力衰竭或心肌病的患者入组，患者年龄大于或等于18岁。如果最终诊断不是慢性心力衰竭或心肌病，则排除患者。

10 如果患者同时被诊断为急性心肌梗死，则排除患者。排除年龄小于18岁的患者；排除怀孕的女性患者。心肌病和慢性心力衰竭由医院临床医生独立判定。急性心肌梗死由医院心脏病专家根据急性心肌梗死的定义独立裁定。收集这些患者入院后的首次肝素锂血浆样本，用于肌钙蛋白复合物及片段组成分析。患者的入组流程见图25。

15 记录患者信息，患者信息包含：年龄、性别、既往病史、肾小球过滤率等。选择符合入组标准的样本进行相关标志物测试。共纳入慢性心脏事件患者179例，其中被诊断为患有慢性心力衰竭的患者29例，患有心肌病的患者62例，有88例同时患有慢性心力衰竭和心肌病。患者信息见表7-1。

表7-1：入组患者特征

慢性心脏事件	慢性心脏事件患者
全部患者例数	n= 179
年龄	60 (49-68)
男性	127 (71%)
肌酐, mmol/L	82.0 (70.3-104.8)
肾小球过滤率 eGFR (mL/min/1.73 m <sup>2</sup> )	67.7 (32.8-92.6)

其中连续变量呈现为中值（25-75%四分位）；分类变量呈现为数字（百分比）

本研究对患者进行为期3个月和1年的随访，可进行诊室随访、电话随访和（或）电子病历收集，记录关于临床事件的信息。主要临床事件包括全因死亡、心肌梗死及计划外冠脉血运重建的复合事件。次要临床事件包括：心血管死亡、主要临床事件的各组成部分、  
5 卒中、心衰住院或急诊留观 24 小时及以上、心脏骤停或恶性心律失常和其他因心血管疾病住院事件，以及上述事件的不同组合复合终点。

## 2. 肌钙蛋白片段及复合物对于患者预后风险的预测能力评估

10 本研究中，共纳入慢性心脏事件患者179例，其中29例（16%）患有慢性心力衰竭，62例（35%）患有心肌病，88例（49%）患有慢性心力衰竭和心肌病。患者出院3个月内总死亡率为0.6%（1/179），发生死亡及心血管不良事件的复合终点事件发生率为12.8%（23/179）。患者出院1年内总死亡率为1.1%（2/179），发生死亡及心血管不良事件的复合终点事件发生率为24.0%（43/179）。

15 通过ROC曲线分析，评估肌钙蛋白复合物和片段标志物用于预测患者预后风险的效能（表7-2）。该实施例中慢性心脏事件患者患有心肌病或慢性心力衰竭。预测事件为患者出院1年内发生死亡及心血管不良事件的复合终点事件。变量包括肌钙蛋白总复合物浓度、大尺寸cTnITC浓度、总cTnITC浓度、cTnT浓度。

20 其中总复合物浓度、大尺寸cTnITC浓度、cTnT浓度的P值均小于0.05，表明变量具有显著性。其中大尺寸cTnITC绝对浓度的曲线下面积AUC为0.614，表明其对患者一年内的  
心血管不良事件及死亡事件具有一定的预测能力。该结果显示，肌钙蛋白总复合物浓度、大尺寸cTnITC浓度、cTnT浓度能够评估患者预后风险。

表7-2：肌钙蛋白复合物和片段标志物用于预测患者预后风险的能力评估

标志物参数	ROC_AUC	标准误	P	95%CI 下限	95%CI 上限
总复合物浓度	0.650	0.046	0.003	0.560	0.740
大尺寸 cTnITC 浓度	0.614	0.047	0.027	0.522	0.705
总 cTnITC 浓度	0.572	0.049	0.159	0.476	0.668
cTnT 浓度	0.757	0.040	0.000	0.678	0.836

使用肌钙蛋白总复合物浓度、大尺寸cTnITC浓度、cTnT浓度作为标志物的不同CUTOFF值对应的灵敏度与特异性计算约登指数，根据约登指数最大值确定最佳CUTOFF值(表7-3)。总复合物浓度高于11.7 ng/L时，预测敏感度86%，特异度42%；大尺寸cTnITC浓度高于0.3 ng/L(约2倍LoD)时，预测敏感度93%，特异度30%；cTnT浓度高于24.3 ng/L时，预测敏感度83%，特异度63%。

表7-3: 肌钙蛋白复合物和片段标志物用于预测患者预后风险的cutoff值对应的灵敏度与特异性

标志物参数	≥ CUTOFF	敏感度	特异性	约登指数
总复合物浓度	11.7330	0.857	0.421	0.278
大尺寸 cTnITC 浓度	0.2925	0.929	0.308	0.237
cTnT 浓度	24.2795	0.833	0.632	0.465

3. 不同肌钙蛋白片段浓度组的复合终点事件发生风险

按照肌钙蛋白浓度将患者分为不同亚组，包括组1“< 25百分位浓度”、组2“25百分位浓度 - 中位浓度”、组3“> 中位浓度”。各标志物对应的亚组浓度见表7-4。

表7-4: 不同肌钙蛋白片段及复合物浓度组对应浓度范围

标志物参数	组 1	组 2	组 3
总复合物 (ng/L)	≤ 8.1	8.1 – 19.5	> 19.5
大尺寸 cTnITC (ng/L)	≤ 0.3	0.3 – 0.7	> 0.7
总 cTnITC (ng/L)	≤ 1.4	1.4 – 2.7	> 2.7
cTnT (ng/L)	≤ 13.7	13.7 – 23.8	> 23.8

利用二分类Logistic回归分析，分析不同钙蛋白片段及复合物浓度组的患者复合终点事件发生的风险(表7-5)。分析发现，总复合物组3 (> 中位浓度19.5 ng/L) P值小于0.05，OR值4.3；大尺寸cTnITC组2 (25百分位浓度 - 中位浓度，0.3 - 0.7 ng/L) 及组3 (> 中位浓度0.7 ng/L) P值小于0.05，OR值分别为4.0和3.1；cTnT组3 (> 中位浓度23.8 ng/L) P值小于0.05，OR值13.8。以上结果表明，总复合物浓度高于19.5 ng/L，大尺寸cTnITC浓度高于0.3 ng/L，cTnT浓度高于23.8 ng/L是患者发生复合终点事件的危险因素。

表7-5: 不同肌钙蛋白片段浓度组复合终点事件的发生风险

标志物参数	浓度分组	<i>P</i> 值	OR	95%CI 下限	95%CI 上限
总复合物	组 1	—	1		
	组 2	0.117	2.714	0.780	9.447
	组 3	0.010	4.373	1.427	13.406
大尺寸 cTnITC	组 1	—	1		
	组 2	0.015	4.055	1.316	12.496
	组 3	0.033	3.102	1.098	8.764
总 cTnITC	组 1	—	1		
	组 2	0.054	2.860	0.983	8.318
	组 3	0.121	2.174	0.814	5.809
cTnT	组 1	—	1		
	组 2	0.265	2.628	0.481	14.350
	组 3	0.001	13.798	3.133	60.771

利用COX回归，分析不同钙蛋白片段及复合物浓度组的患者复合终点事件发生的风险（表7-6），并绘制不同患者组的生存曲线（图26）。分析发现，总复合物组3（> 中位浓度19.5 ng/L）*P*值小于0.05，HR值3.8；大尺寸cTnITC组2（25百分位浓度 - 中位浓度，0.3 - 0.7 ng/L）及组3（> 中位浓度0.7 ng/L）*P*值小于0.05，HR值分别为3.4和2.8；总cTnITC组2（25百分位浓度 - 中位浓度，1.4 - 2.7 ng/L）*P*值小于0.05，HR值2.8；cTnT组3（> 中位浓度23.8 ng/L）*P*值小于0.05，HR值9.9。以上结果表明，总复合物浓度高于19.5 ng/L，大尺寸cTnITC浓度高于0.3 ng/L，总cTnITC浓度在1.4 - 2.7 ng/L之间，以及cTnT浓度高于23.8 ng/L是患者发生复合终点事件的危险因素。

表 7-6：不同肌钙蛋白片段浓度组复合终点事件的发生风险(COX 回归分析)

标志物参数	浓度分组	<i>P</i> 值	HR	95%CI 下限	95%CI 上限
总复合物	组 1	—	1		
	组 2	0.095	2.689	0.840	8.606
	组 3	0.013	3.762	1.316	10.750
大尺寸 cTnITC	组 1	—	1		
	组 2	0.017	3.472	1.245	9.681
	组 3	0.034	2.840	1.081	7.466
总 cTnITC	组 1	—	1		

	组 2	0.040	2.772	1.048	7.333
	组 3	0.125	2.091	0.816	5.359
cTnT	组 1	—	1		
	组 2	0.523	1.720	0.326	9.062
	组 3	0.002	9.872	2.320	42.014

以上数据显示，大尺寸cTnITC可以用于发生慢性心脏事件，例如慢性心力衰竭或心肌病的患者的心肌损伤的预后，且分组的数据也显示，该标志物的浓度越高，风险越高，预后越差。

## 5 实施例8 排除未发生心肌损伤事件胸痛受试者

### 1. 患者入组及诊断

从急诊科纳入连续就诊的疑似冠脉综合症的急性胸痛患者，以建立非ST段抬高型心肌梗死（NSTEMI）患者的快速排除的阈值和流程，并评估其安全性和有效性。纳入规则：

- 10 (1) 18岁及以上的中国人， (2) 因疑似急性心肌梗死的症状或体征就诊（可能的心脏症状包括：出现急性胸部、上腹、颈部、下颌或手臂疼痛或不适或压力） (3) 就诊时进行采血；排除规则：就诊时明确为 STEMI 患者；怀孕的女性患者；四周之内做过重大手术和创伤的患者以及明确由非心血管原因引起的胸痛患者。

15 急性心肌梗死由医院心脏病专家根据急性心肌梗死的定义独立裁定。通过临床检查，包括体格检查、超声心动图、心电图记录、高敏肌钙蛋白I检测、高敏肌钙蛋白T检测和冠状动脉造影等完成急性心肌梗死的裁定。在患者接受治疗前采集肝素锂血浆样本，用于肌钙蛋白复合物及片段组成分析。患者的入组流程见图27。

20 记录患者信息，患者信息包含：年龄、性别、既往病史、高血压、糖尿病、是否吸烟、肌酐、肾小球过滤率。选择符合入组标准的样本进行相关标志物测试。共纳入疑似急性心肌梗死患者1210例，其中被诊断患有NSTEMI的患者138例，非心肌梗死患者1072例。患者关键信息见表8-1。

表8-1：入组患者特征

---

疑似急性心肌梗死患入组信息

---

	全部	NSTEMI	非 MI
患者例数	1210	138 (11%)	1072 (89%)
年龄	61 (51 - 70)	66 (59 - 74)	60 (50 - 69)
男性	689 (57%)	94 (68%)	595 (55%)
肾小球过滤率 eGFR (mL/min/1.73 m <sup>2</sup> )	180 (15%)	84 (68 - 102)	88 (71 - 99)

其中连续变量呈现为中值（25-75%四分位）；分类变量呈现为数字（百分比）。

## 2. 肌钙蛋白片段及复合物用于排除NSTEMI的效能评价

该实施例中选择全部疑似急性冠脉综合征症状入组的患者进行分析，共纳入疑似NSTEMI患者1210例，其中NSTEMI患者138例。表8-2示出所使用的肌钙蛋白复合物和片段标志物的诊断效力。

其中总复合物绝对浓度、大尺寸cTnITC的绝对浓度、总cTnITC绝对浓度、cTnT绝对浓度、cTnI绝对浓度的P值均小于0.05，表明变量具有显著性。其中大尺寸cTnITC绝对浓度的曲线下面积AUC为0.959，具有较好的诊断效能。cTnI试剂盒和总复合物的测值类似，两者在临床上有一定的等效性。该结果显示，单独使用大尺寸cTnITC的绝对浓度或总cTnITC绝对浓度，能够更有效的预测NSTEMI。其中，优选大尺寸cTnITC。

表8-2：肌钙蛋白复合物和片段标志物用于诊断NSTEMI的AUC值分析

标志物参数	ROC_AUC	标准误	P	95%CI 下限	95%CI 上限
总复合物绝对浓度	0.953	0.009	0.000	0.935	0.971
大尺寸 cTnITC 绝对浓度	0.959	0.008	0.000	0.943	0.975
总 cTnITC 绝对浓度	0.889	0.016	0.000	0.858	0.921
cTnT 绝对浓度	0.927	0.011	0.000	0.904	0.949
cTnI 绝对浓度	0.950	0.010	0.000	0.930	0.969



在疑似心肌梗死的患者中，使用极低的肌钙蛋白阈值，能够在就诊时实现对非心肌梗死患者的早期安全排除。依据指南推荐的心肌梗死排除效能标准（要求诊断灵敏度不低于99%，测试的阴性预测值NPV不低于99.5%）建立肌钙蛋白复合物及片段的排除阈值。根据排除阈值，计算NSTEMI患者排除的灵敏度、NPV，同时计算排除的患者比例。计算方法见表8-3。建立的阈值及诊断效能数据如表8-4所示。这些数据进一步表明，大尺寸cTnITC绝对浓度、总cTnITC都能够辅助心肌梗死的诊断，用于排除非心肌损伤患者。其中大尺寸cTnITC的测值能够以较高的比例，安全排除非心肌梗死的患者，效能与总复合物相近，优于cTnT。

表8-3：诊断灵敏度、阴性预测值（NPV）的分析方法

检验判定结果	临床判定结果		合计
	确诊	排除	
阳性	a	b	a+b
阴性	c	d	c+d
合计	a+c	b+d	n(a+b+c+d)

$$10 \quad \text{灵敏度} = a/(a+c) \times 100\% \quad \text{NPV} = d/(c+d) \times 100\%$$

表8-4：肌钙蛋白复合物和片段标志物用于排除NSTEMI的阈值及诊断效能

标志物参数	排除阈值	灵敏度	NPV	排除患者比例
总复合物绝对浓度	2.70	99.3%	99.8%	54%
大尺寸 cTnITC 绝对浓度	0.14	99.3%	99.8%	52%
总 cTnITC 绝对浓度	0.34	99.3%	99.5%	16%
cTnT 绝对浓度	5.70	99.3%	99.8%	38%

注：排除患者比例=排除患者的人数（标志物测值低于设定的排除阈值）/ 总患者人数

### 3. 肌钙蛋白片段及复合物用于排除 NSTEMI的效能评价（早期胸痛患者）

15 该实施例中选择胸痛发作时间在24小时内的患者为早期胸痛患者进行分析，共纳入疑似NSTEMI患者764例，其中NSTEMI患者88例。表8-5示出所使用的肌钙蛋白复合物和片段

标志物的诊断效力。其中总复合物绝对浓度、大尺寸cTnITC的绝对浓度、总cTnITC绝对浓度、cTnT绝对浓度的P值均小于0.05，表明变量具有显著性。其中大尺寸cTnITC绝对浓度的曲线下面积AUC为0.976，具有较好的诊断效能。

5 表8-5: 肌钙蛋白复合物和片段标志物用于诊断NSTEMI的AUC值分析(早期胸痛患者, 胸痛时间≤24小时)

标志物参数	ROC_AUC	标准误	P	95%CI 下限	95%CI 上限
总复合物绝对浓度	0.960	0.012	0.000	0.936	0.984
大尺寸 cTnITC 绝对浓度	0.976	0.006	0.000	0.964	0.988
总 cTnITC 绝对浓度	0.896	0.019	0.000	0.859	0.933
cTnT 绝对浓度	0.935	0.014	0.000	0.907	0.962

10 在疑似心肌梗死的早期胸痛患者中(胸痛时间≤24小时)，使用极低的肌钙蛋白阈值，能够在就诊时实现对非心肌梗死患者的早期安全排除。依据指南推荐的心肌梗死排除效能标准(要求诊断灵敏度不低于99%，测试的阴性预测值NPV不低于99.5%)建立肌钙蛋白复合物及片段的排除阈值。根据排除阈值，计算NSTEMI患者排除的灵敏度、NPV，同时计算排除的患者比例。建立的阈值及诊断效能数据如表8-6所示。

表8-6: 肌钙蛋白复合物和片段标志物用于排除NSTEMI的阈值及诊断效能(早期胸痛患者, 胸痛时间≤24小时)

标志物参数	排除阈值	灵敏度	NPV	排除患者比例
总复合物绝对浓度	3.30	98.9%	99.8%	59%
大尺寸 cTnITC 绝对浓度	0.25	98.9%	99.8%	67%
总 cTnITC 绝对浓度	0.39	98.9%	99.3%	20%
cTnT 绝对浓度	5.70	98.9%	99.7%	39%

注：排除患者比例=排除患者的人数(标志物测值低于设定的排除阈值)/总患者人数

15 若该实施例中选择胸痛发作时间在12小时内的患者为早期胸痛患者进行分析，共纳入疑似NSTEMI患者617例，其中NSTEMI患者59例。表8-7示出所使用的肌钙蛋白复合物和片段标志物的诊断效力。其中总复合物绝对浓度、大尺寸cTnITC的绝对浓度、总cTnITC绝

对浓度、cTnT绝对浓度的P值均小于0.05，表明变量具有显著性。其中大尺寸cTnITC绝对浓度的曲线下面积AUC为0.972，具有较好的诊断效能。

表8-7: 肌钙蛋白复合物和片段标志物用于诊断NSTEMI的AUC值分析(早期胸痛患者, 胸痛时间≤12小时)

标志物参数	ROC_AUC	标准误差	P	95%CI 下限	95%CI 上限
总复合物绝对浓度	0.960	0.010	0.000	0.940	0.979
大尺寸 cTnITC 绝对浓度	0.972	0.007	0.000	0.958	0.987
总 cTnITC 绝对浓度	0.889	0.023	0.000	0.844	0.933
cTnT 绝对浓度	0.932	0.014	0.000	0.904	0.960

5 在疑似心肌梗死的早期胸痛患者中(胸痛时间≤12小时)，使用极低的肌钙蛋白阈值，能够在就诊时实现对非心肌梗死患者的早期安全排除。依据指南推荐的心肌梗死排除效能标准(要求诊断灵敏度不低于99%，测试的阴性预测值NPV不低于99.5%)建立肌钙蛋白复合物及片段的排除阈值。根据排除阈值，计算NSTEMI患者排除的灵敏度、NPV，同时计算排除的患者比例。建立的阈值及诊断效能数据如表8-8所示。

10 表8-8: 肌钙蛋白复合物和片段标志物用于排除NSTEMI的阈值及诊断效能(早期胸痛患者, 胸痛时间≤12小时)

标志物参数	排除阈值	灵敏度	NPV	排除患者比例
总复合物绝对浓度	3.50	98.3%	99.7%	61%
大尺寸 cTnITC 绝对浓度	0.30	98.3%	99.8%	72%
总 cTnITC 绝对浓度	1.35	98.3%	99.6%	43%
cTnT 绝对浓度	9.60	98.3%	99.7%	64%

15 以上数据表明，肌钙蛋白大尺寸cTnITC复合物，总cTnITC复合物单独使用可以用于在疑似心肌梗死的胸痛患者队列中辅助心肌梗死的诊断，用于排除未发生心肌损伤的患者，以便患者及早离开急诊室，减少患者留观时间，进行其他疾病的诊疗，也可以加快急诊室的周转。

此外，在胸痛发作早期的患者中(胸痛时间≤12小时或24小时)，大尺寸cTnITC的测值能够以较高的比例，安全排除非心肌梗死的患者。与总复合物和cTnT相比，其排除患者人数占总人数比例更高，诊断效能更优。通过比较全部胸痛病人的，胸痛24小时之内的、

胸痛12小时之内的数据，显示大尺寸cTnITC在胸痛时间越短的病人中，安全排除的比例越高，相比总复合物，越有优势。

### 3. 肌钙蛋白片段浓度的联合检测用于排除 NSTEMI 的效能评价

使用多种肌钙蛋白片段浓度联合检测，用于快速排除NSTEMI。

- 5 测试标志物包括总复合物浓度、大尺寸cTnITC浓度、总cTnITC浓度和cTnT浓度。选择大尺寸cTnITC浓度+总复合物浓度为特征量进行联合测试，分别建立阈值。排除大尺寸cTnITC浓度和总复合物浓度同时低于阈值条件的患者，以实现最大的安全性。建立的阈值及诊断效能数据如表8-9所示。以上数据表明，联合检测多种肌钙蛋白片段浓度用于心梗患者的快速排除，能够辅助心肌梗死诊断。与使用单一标志物相比，联合检测多种肌钙蛋白
- 10 片段能够将漏诊心肌梗死患者数量降低为0，达到100%的灵敏度和100%的阴性预测值。

表8-9: 肌钙蛋白复合物和片段标志物用于排除NSTEMI的阈值及诊断效能(联合使用)

排除患者条件	漏 诊 NSTEMI	灵敏度	NPV	排除患者比例
总复合物绝对浓度<4.20 ng/L，且 大尺寸 cTnITC 浓度<0.18 ng/L	1	99.3%	99.8%	52%
总复合物绝对浓度<2.70 ng/L，且 大尺寸 cTnITC 浓度<0.18 ng/L	0	100%	100%	46%
总复合物绝对浓度<4.20 ng/L，且 大尺寸 cTnITC 浓度<0.14 ng/L	0	100%	100%	46%
总复合物浓度<2.70 ng/L	1	99.3%	99.8%	54%
大尺寸 cTnITC 浓度<0.14 ng/L	1	99.3%	99.8%	52%

表8-9的数据显示，单一标志物无法有效的解决漏检的问题，联检可以做到，且排除率下降不多，是兼顾漏诊和排除患者比例这对矛盾的优选解决方案。

- 15 该实施例显示，肌钙蛋白大尺寸cTnITC复合物、总cTnITC复合物能够在临床上表现为胸痛的患者中排除未发生心肌损伤的患者，优选大尺寸cTnITC复合物，其诊疗效果优于cTnT；特别是在早期胸痛患者中，肌钙蛋白大尺寸cTnITC复合物更有优势；而且其结合总复合物，既能避免漏检又能保持较好的排除患者的比例，在排除胸痛受试者发生心肌损伤事件这个心肌损伤诊断的用途上，表现出很好的诊断效力。

除本文中描述的那些外，根据前述描述，本发明的各种修改对本领域技术人员而言会是显而易见的。这样的修改也意图落入所附权利要求书的范围内。本发明的全部范围由所附权利要求及其任何等同物给出。

## 权 利 要 求

1. 一种在体外评估受试者心肌损伤的方法，包括：

检测来自所述受试者的样品中一种或多种心肌损伤标志物的含量；

基于所述一种或多种心肌损伤标志物的含量，获得用于评估心肌损伤的特征参数；

将所述特征参数与所述特征参数的参考值进行比较；

基于所述比较的结果，对受试者心肌损伤进行评估；

其中，所述一种或多种心肌损伤标志物包括大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物和/或总心肌肌钙蛋白三元复合物；

所述大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物为肌钙蛋白 C 的全长蛋白或任意氨基酸片段、心肌肌钙蛋白 I 的全长蛋白或任意氨基酸片段、心肌肌钙蛋白 T 的氨基酸残基 223-287 中的一段或多段和心肌肌钙蛋白 T 的氨基酸残基 1-222 中的一段或多段形成的复合物；

所述总心肌肌钙蛋白三元复合物为肌钙蛋白 C 的全长蛋白或任意氨基酸片段、心肌肌钙蛋白 I 的全长蛋白或任意氨基酸片段和心肌肌钙蛋白 T 的氨基酸残基 223-287 中的一段或多段、以及任选的心肌肌钙蛋白 T 的氨基酸残基 1-222 中的一段或多段形成的复合物。

2. 如权利要求 1 所述的方法，其中，所述心肌损伤标志物进一步包括下述的一种或多种：

**cTnI**，包括心肌肌钙蛋白 I 的全长蛋白或其任意氨基酸片段；

**cTnT**，包括心肌肌钙蛋白 T 的全长蛋白或其任意氨基酸片段；

**TnC**，包括肌钙蛋白 C 的全长蛋白或其任意氨基酸片段；

心肌肌钙蛋白二元复合物，包括肌钙蛋白 C 的全长蛋白或其任意氨基酸片段和心肌肌钙蛋白 I 的全长蛋白或其任意氨基酸片段组成的二元复合物；和

总心肌肌钙蛋白复合物，包括所述总心肌肌钙蛋白三元复合物、肌钙蛋白 C 的全长蛋白或其任意氨基酸片段和心肌肌钙蛋白 I 的全长蛋白或其任意氨基酸片段组成的二元复合物；

优选地，所述一种或多种心肌损伤标志物进一步包括 **cTnI**、**cTnT** 和总心肌肌钙蛋白复合物中的至少一个。

3. 如权利要求 1 或 2 所述的方法，其中，基于所述一种或多种心肌损伤标志物的

含量，获得用于评估心肌损伤的特征参数，包括：

将所述大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物或总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量确定为用于评估心肌损伤的特征参数；或者

基于所述大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物的含量和所述总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量获得用于评估心肌损伤的特征参数。

4. 如权利要求 1-3 任一项所述的方法，其中，基于所述一种或多种心肌损伤标志物的含量，获得用于评估心肌损伤的特征参数，包括：将所述多种心肌损伤标志物的含量输入预设函数模型，以得到所述预设函数模型的输出作为用于评估心肌损伤的特征参数。

5. 如权利要求 1-4 任一项所述的方法，其中，基于所述一种或多种心肌损伤标志物的含量，获得用于评估心肌损伤的特征参数，包括：将下列比例参数之一确定为用于评估心肌损伤的特征参数，或者基于下列比例参数中的至少两个参数来获得用于评估心肌损伤的特征参数，或者基于下列比例参数中的至少一个参数和 cTnT 的含量与总心肌肌钙蛋白复合物的含量的比例来获得用于评估心肌损伤的特征参数；

所述比例参数包括：大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物的含量与 cTnI 的含量的比例、大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物的含量与 cTnT 的含量的比例、大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物的含量与总心肌肌钙蛋白复合物的含量的比例、总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量与 cTnI 的含量的比例、总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量与 cTnT 的含量的比例、总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量与总心肌肌钙蛋白复合物的含量的比例以及大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物的含量与总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量的比例；

优选地，所述比例参数为大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物的含量与 cTnI、cTnT 或总心肌肌钙蛋白复合物的含量的比例；任选地，所述比例参数进一步包括总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量与 cTnI、cTnT 或总心肌肌钙蛋白复合物的含量的比例，和/或 cTnT 的含量与 cTnI 或总心肌肌钙蛋白复合物的含量的比例。

6. 权利要求 1-5 任一项所述的方法，其中，所述方法用于受试者心肌损伤的诊断；优选地，基于大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物得到特征参数，所述特征参数用于受试者心肌损伤的诊断。

7. 权利要求 1-5 任一项所述的方法，其中，所述方法用于评估受试者心肌损伤的预后；优选地，基于大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物得到特征参数，所述特征参数用于评估受试者心肌损伤预后。

8. 如权利要求 1-6 任一项所述的方法，其中，基于所述比较的结果，对受试者心肌损伤进行评估，包括：

基于所述比较的结果，对受试者进行心肌梗死分期；

优选地，当所述特征参数高于该特征参数的参考值时，判断所述受试者处于急性心肌梗死早期。

9. 如权利要求 8 所述的方法，其中，基于所述一种或多种心肌损伤标志物的含量，获得用于评估心肌损伤的特征参数，包括：

将所述大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物的含量确定为用于评估心肌损伤的特征参数；或者

基于所述大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物的含量以及 cTnI、cTnT、总心肌肌钙蛋白三元复合物和总心肌肌钙蛋白复合物中的至少一个的含量，优选基于所述大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物的含量与 cTnT 的含量获得用于评估心肌损伤的特征参数；或者

基于所述大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物的含量或所述总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量与 cTnI、cTnT 和总心肌肌钙蛋白复合物中的至少一个的含量的比例，以及任选地 cTnT 的含量与 cTnI 或总心肌肌钙蛋白复合物的含量的比例获得用于评估心肌损伤的特征参数。

10. 如权利要求 1-6 任一项所述的方法，其中，基于所述比较的结果，对受试者心肌损伤进行评估，包括：

基于所述比较的结果，判断受试者是发生 I 型心肌梗死还是 II 型心肌梗死；

优选地，当所述特征参数高于该特征参数的参考值时，判断所述受试者发生 I 型心肌梗死；或者

优选地，基于所述大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物的含量或所述总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量与总心肌肌钙蛋白复合物的比例，获得用于评估心肌损伤的特征参数。



11. 如权利要求 1-6 任一项所述的方法，其中，基于所述比较的结果，对受试者心肌损伤进行评估，包括：

基于所述比较的结果，判断所述受试者发生 I 型心肌梗死还是慢性心脏事件；

优选地，当所述特征参数高于该特征参数的参考值时，判断所述受试者发生 I 型心肌梗死。

12. 如权利要求 11 所述的方法，其中，基于所述一种或多种心肌损伤标志物的含量，获得用于评估心肌损伤的特征参数，包括：

将所述大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物的含量或所述总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量确定为用于评估心肌损伤的特征参数；或者

基于所述大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物的含量和所述总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量获得用于评估心肌损伤的特征参数；或者

基于所述大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物的含量或所述总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量与 cTnT 或总心肌肌钙蛋白复合物的含量获得用于评估心肌损伤的特征参数；

优选地，基于所述大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物的含量或所述总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量与 cTnI、cTnT 和总心肌肌钙蛋白复合物中的至少一个的含量的比例，以及任选地 cTnT 的含量与 cTnI 或总心肌肌钙蛋白复合物的含量的比例获得用于评估心肌损伤的特征参数。

13. 如权利要求 1-6 任一项所述的方法，其中，基于所述比较的结果，对受试者心肌损伤进行评估，包括：

基于所述比较的结果，判断所述受试者发生有创操作所致心肌损伤还是慢性心脏事件；

优选地，当所述特征参数高于该特征参数的参考值时，判断所述受试者发生有创操作所致心肌损伤。

14. 如权利要求 13 所述的方法，其中，基于所述一种或多种心肌损伤标志物的含量，获得用于评估心肌损伤的特征参数，包括：

将所述大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物的含量或所述总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量确定为用于评估心肌损伤的特征参数；

优选地，基于所述大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物的含量或所述总心肌肌钙蛋白

三元复合物的含量与 cTnI、cTnT 和总心肌肌钙蛋白复合物中的至少一个的含量的比例，以及任选地 cTnT 的含量与 cTnI 或总心肌肌钙蛋白复合物的含量的比例获得用于评估心肌损伤的特征参数。

15. 如权利要求 1-6 任一项所述的方法，基于所述比较结果，排除未发生心肌损伤事件的胸痛受试者；

优选地，当所述特征参数低于该特征参数的参考值时，排除未发生心肌损伤事件的胸痛受试者；

优选地，心肌损伤事件为心肌梗死或 NSTEMI。

16. 如权利要求 15 所述的方法，其中，基于所述一种或多种心肌损伤标志物的含量，获得用于评估心肌损伤的特征参数，包括：

将所述大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物的含量或所述总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量确定为用于评估心肌损伤的特征参数，；或者

基于所述大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物的含量或所述总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量与总心肌肌钙蛋白复合物的含量获得用于评估心肌损伤的特征参数。

17. 如权利要求 7 所述的方法，基于所述比较的结果，评估发生急性心肌损伤的受试者的心肌损伤预后；优选的所述受试者为接受心脏外科手术或发生心肌梗死的受试者；

优选地，当所述特征参数高于该特征参数的参考值时，判断预后不良。

18. 如权利要求 17 所述的方法，其中，基于所述一种或多种心肌损伤标志物的含量，获得用于评估心肌损伤的特征参数，包括：

将所述大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物或总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量确定为用于评估心肌损伤的特征参数；

优选地，将所述受试者接受心脏外科手术前后血浆中大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物或总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量变化确定为用于评估接受外科手术预后风险的特征参数。

19. 如权利要求 7 所述的方法，基于所述比较的结果，评估慢性心肌损伤受试者的心肌损伤的预后；

优选的，所述受试者为心肌病、慢性心力衰竭、结构性心脏病、浸润性疾病、稳定

型冠心病、持续性心律失常的患者；

优选地，当所述特征参数高于该特征参数的参考值时，判断预后不良。

20. 如权利要求 19 所述的方法，其中，基于所述一种或多种心肌损伤标志物的含量，获得用于评估心肌损伤的特征参数，包括：

将所述大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物或总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量确定为用于评估心肌损伤的特征参数。

21. 一种获取用于评估受试者心肌损伤的特征参数的装置，包括：

数据接收模块，被配置用于接收从来自受试者的样品中获取的一种或多种心肌损伤标志物的含量，所述一种或多种心肌损伤标志物包括大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物和/或总心肌肌钙蛋白三元复合物；

数据处理模块，被配置用于处理接收模块接收到的一种或多种心肌损伤标志物的含量数据，获得用于评估心肌损伤的特征参数；

以及，输出模块，被配置用于输出所述特征参数；

其中，所述大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物为肌钙蛋白 C 的全长蛋白或任意氨基酸片段、心肌肌钙蛋白 I 的全长蛋白或任意氨基酸片段、心肌肌钙蛋白 T 的氨基酸残基 223-287 中的一段或多段和心肌肌钙蛋白 T 的氨基酸残基 1-222 中的一段或多段形成的复合物；

所述总心肌肌钙蛋白三元复合物为肌钙蛋白 C 的全长蛋白或任意氨基酸片段、心肌肌钙蛋白 I 的全长蛋白或任意氨基酸片段和心肌肌钙蛋白 T 的氨基酸残基 223-287 中的一段或多段、以及任选的心肌肌钙蛋白 T 的氨基酸残基 1-222 中的一段或多段形成的复合物。

22. 如权利要求 21 所述的装置，其中，所述数据处理模块处理所述一种或多种心肌损伤标志物的含量，获得用于评估心肌损伤的特征参数，包括：

所述数据处理模块将所述心肌肌钙蛋白三元复合物或总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量确定为用于评估心肌损伤的特征参数；或者

所述数据处理模块基于所述心肌肌钙蛋白三元复合物的含量和所述总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量获得用于评估心肌损伤的特征参数。

23. 如权利要求 21 所述的装置，其中，所述心肌损伤标志物进一步包括下述的一

种或多种：

**cTnI**，包括心肌肌钙蛋白 **I** 的全长蛋白或其任意氨基酸片段；

**cTnT**，包括心肌肌钙蛋白 **T** 的全长蛋白或其任意氨基酸片段；

**TnC**，包括肌钙蛋白 **C** 的全长蛋白或其任意氨基酸片段；

心肌肌钙蛋白二元复合物，包括肌钙蛋白 **C** 的全长蛋白或其任意氨基酸片段和心肌肌钙蛋白 **I** 的全长蛋白或其任意氨基酸片段组成的二元复合物；和

总心肌肌钙蛋白复合物，包括所述总心肌肌钙蛋白三元复合物、肌钙蛋白 **C** 的全长蛋白或其任意氨基酸片段和心肌肌钙蛋白 **I** 的全长蛋白或其任意氨基酸片段组成的二元复合物；

优选地，所述一种或多种心肌损伤标志物进一步包括 **cTnI**、**cTnT** 和总心肌肌钙蛋白复合物中的至少一个。

24. 如权利要求 21-23 任一项所述的装置，其中，所述数据处理模块处理所述一种或多种心肌损伤标志物的含量，获得用于评估心肌损伤的特征参数，包括：所述数据处理模块将所述多种心肌损伤标志物的含量输入预设函数模型，以得到所述预设函数模型的输出作为用于评估心肌损伤的特征参数。

25. 如权利要求 21-24 任一项所述的装置，其中，所述数据处理模块处理所述一种或多种心肌损伤标志物的含量，获得用于评估心肌损伤的特征参数，包括：所述数据处理模块将下列比例参数之一确定为用于评估心肌损伤的特征参数，或者基于下列比例参数中的至少两个参数来获得用于评估心肌损伤的特征参数，或者基于下列比例参数中的至少一个参数和 **cTnT** 的含量与总心肌肌钙蛋白复合物的含量的比例来获得用于评估心肌损伤的特征参数；

所述比例参数包括：大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物的含量与 **cTnI** 的含量的比例、大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物的含量与 **cTnT** 的含量的比例、大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物的含量与总心肌肌钙蛋白复合物的含量的比例、总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量与 **cTnI** 的含量的比例、总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量与 **cTnT** 的含量的比例、总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量与总心肌肌钙蛋白复合物的含量的比例以及大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物的含量与总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量的比例；

优选地，所述比例参数为大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物的含量与 cTnI、cTnT 或总心肌肌钙蛋白复合物的含量的比例；任选地，所述比例参数进一步包括总心肌肌钙蛋白三元复合物的含量与 cTnI、cTnT 或总心肌肌钙蛋白复合物的含量的比例，和/或 cTnT 的含量与 cTnI 或总心肌肌钙蛋白复合物的含量的比例。

26. 一种样本分析系统，包括：

样本承载部，用于承载装有受试者的样品的容器；

样本分注部，用于从样本承载部吸取受试者的样品并将其排放到待加样的反应杯中；

试剂承载部，用于承载检测试剂；

试剂分注部，用于从试剂承载部吸取检测试剂并将其排放到待加试剂的反应杯中；

反应部，用于放置反应杯，以便孵育反应杯中的由受试者的样品与检测试剂反应得到的试液；

检测部，具有信号检测器，用于检测反应杯中的试液的信号，以测定和输出受试者的样品中的一种或多种心肌损伤标志物的含量，所述一种或多种心肌损伤标志物包括大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物和/或总心肌肌钙蛋白三元复合物，其中，所述大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物为肌钙蛋白 C 的全长蛋白或任意氨基酸片段、心肌肌钙蛋白 I 的全长蛋白或任意氨基酸片段、心肌肌钙蛋白 T 的氨基酸残基 223-287 中的一段或多段和心肌肌钙蛋白 T 的氨基酸残基 1-222 中的一段或多段形成的复合物，所述总心肌肌钙蛋白三元复合物为肌钙蛋白 C 的全长蛋白或任意氨基酸片段、心肌肌钙蛋白 I 的全长蛋白或任意氨基酸片段和心肌肌钙蛋白 T 的氨基酸残基 223-287 中的一段或多段、以及任选的心肌肌钙蛋白 T 的氨基酸残基 1-222 中的一段或多段形成的复合物；

数据处理部，包括处理器和计算机可读存储介质，在计算机可读存储介质上存储有计算机可读指令，其特征在于，所述计算机可读指令在被处理器执行时引起所述处理器实施如下步骤：

接收并处理所述一种或多种心肌损伤标志物的含量，以获得用于评估心肌损伤的特征参数；以及

输出所述特征参数。

27. 用于样品中大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物定量检测的试剂和/或总心肌肌钙

蛋白三元复合物定量检测的试剂在制备试剂盒中的用途，其中所述试剂盒用于评估受试者心肌损伤，

其中，所述大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物为肌钙蛋白 C 的全长蛋白或任意氨基酸片段、心肌肌钙蛋白 I 的全长蛋白或任意氨基酸片段、心肌肌钙蛋白 T 的氨基酸残基 223-287 中的一段或多段和心肌肌钙蛋白 T 的氨基酸残基 1-222 中的一段或多段形成的复合物；

所述总心肌肌钙蛋白三元复合物为肌钙蛋白 C 的全长蛋白或任意氨基酸片段、心肌肌钙蛋白 I 的全长蛋白或任意氨基酸片段和心肌肌钙蛋白 T 的氨基酸残基 223-287 中的一段或多段、以及任选的心肌肌钙蛋白 T 的氨基酸残基 1-222 中的一段或多段形成的复合物。

28. 如权利要求 27 所述的用途，所述试剂盒中进一步包括心肌肌钙蛋白总复合物定量检测的试剂、cTnI 定量检测的试剂和/或 cTnT 定量检测的试剂，其中，

所述 cTnI 包括心肌肌钙蛋白 I 的全长蛋白或其任意氨基酸片段；

所述 cTnT 包括心肌肌钙蛋白 T 的全长蛋白或其任意氨基酸片段；

所述心肌肌钙蛋白总复合物包括所述总心肌肌钙蛋白三元复合物以及肌钙蛋白 C 的全长蛋白或其任意氨基酸片段和心肌肌钙蛋白 I 的全长蛋白或其任意氨基酸片段组成的二元复合物。

29. 如权利要求 27 或 28 所述的用途，所述用于样品中大尺寸心肌肌钙蛋白三元复合物定量检测的试剂包括第一组抗体和第二组抗体，其中，

所述第一组抗体包括一个或多个抗体 1-1，各所述抗体 1-1 独立地选自特异性结合 cTnT 第 67-222 位氨基酸序列中任意一段的抗体；

所述第二组抗体包括一个或多个抗体 1-2，各所述抗体 1-2 独立地选自特异性结合 TnC 氨基酸序列中任意一段的抗体；

任选的，所述第二组抗体进一步包括一个或多个抗体 1-3，各所述抗体 1-3 独立地选自特异性结合 cTnIC 的抗体；和/或，

一个或多个抗体 1-4，各所述抗体 1-4 独立地选自特异性结合 cTnI 第 18-210 位氨基酸序列中任意一段的抗体；

优选地，所述第一组抗体中不包括特异性结合 cTnT 第 223-287 位氨基酸序列中任意一段的抗体；

优选地，所述第一组抗体为捕获抗体，所述第二组抗体为检测抗体。

30. 权利要求 27-29 任一项所述的用途，所述用于样品中总心肌肌钙蛋白三元复合物定量检测的试剂包括第一抗体组和第二抗体组，其中，

所述第一检测试剂包括一个或多个抗体 2-1，各所述抗体 2-1 独立地选自特异性结合 cTnT 第 223-287 位氨基酸序列中任意一段的抗体；

所述第二检测试剂包括一个或多个抗体 2-2，各所述抗体 2-2 独立地选自特异性结合 TnC 氨基酸序列中任意一段的抗体；

任选的，所述第一检测试剂还包括一个或多个抗体 2-3，各所述抗体 2-3 独立地选自特异性结合 cTnT 第 67-222 位氨基酸序列中任意一段的抗体；

任选的，所述第二检测试剂还包括：

一个或多个抗体 2-4，各所述抗体 2-4 独立地选自特异性结合 cTnIC 的抗体；和/或

一个或多个抗体 2-5，各所述抗体 2-5 独立地选自特异性结合 cTnI 第 18-210 位氨基酸序列中任意一段的抗体；

优选地，所述第一抗体组为捕获抗体，所述第二抗体组为检测抗体。

31. 如权利要求 27-30 任一项所述的用途，所述试剂盒用于下述一项或多项：

- 1) 心肌梗死分期，特别是判断所述受试者是否处于心肌梗死早期；
- 2) 区分 I 型心肌梗死和慢性心脏事件；
- 3) 排除未发生心肌损伤事件的胸痛受试者； 4) 区分 I 型心肌梗死和 II 型心肌梗死；
- 5) 区分有创操作所致心肌损伤和慢性心脏事件；
- 6) 评估慢性心肌损伤预后；
- 7) 评估急性心肌损伤预后。

100

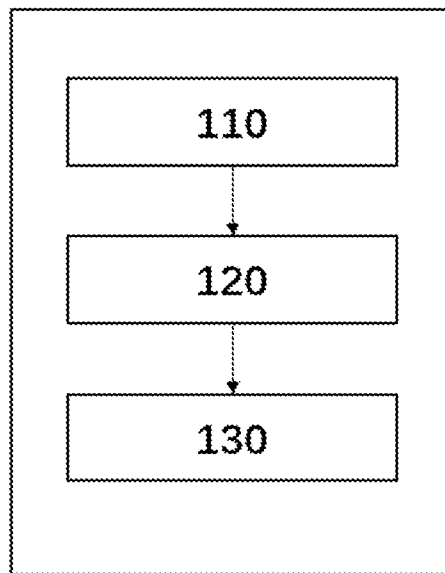


图 1

200

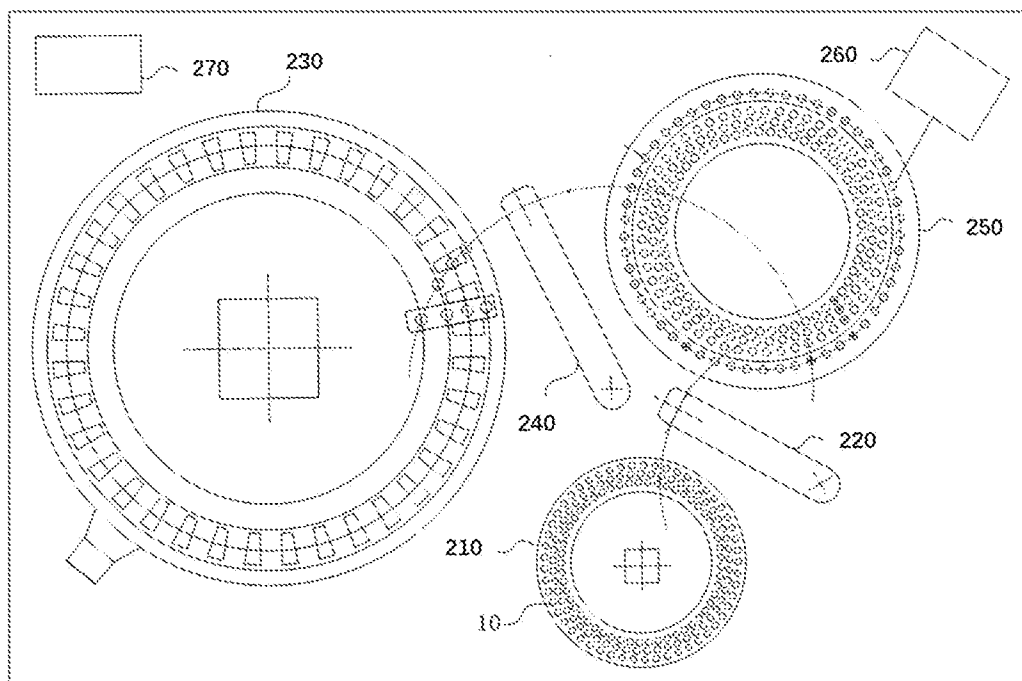


图 2



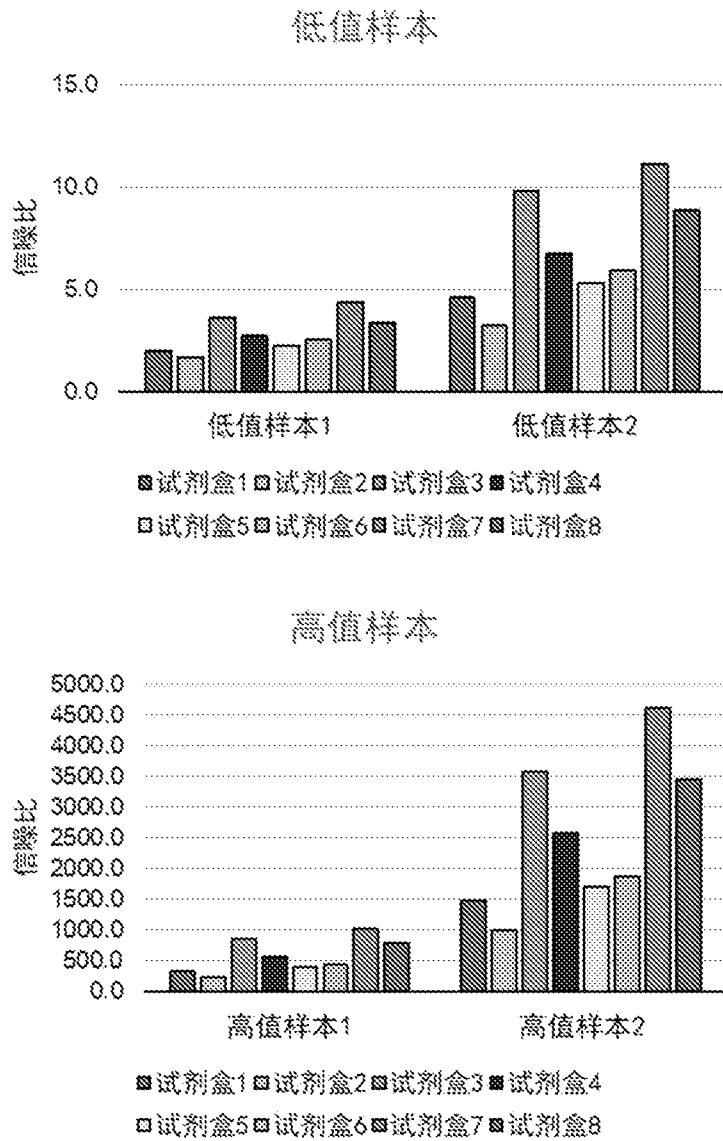


图 3

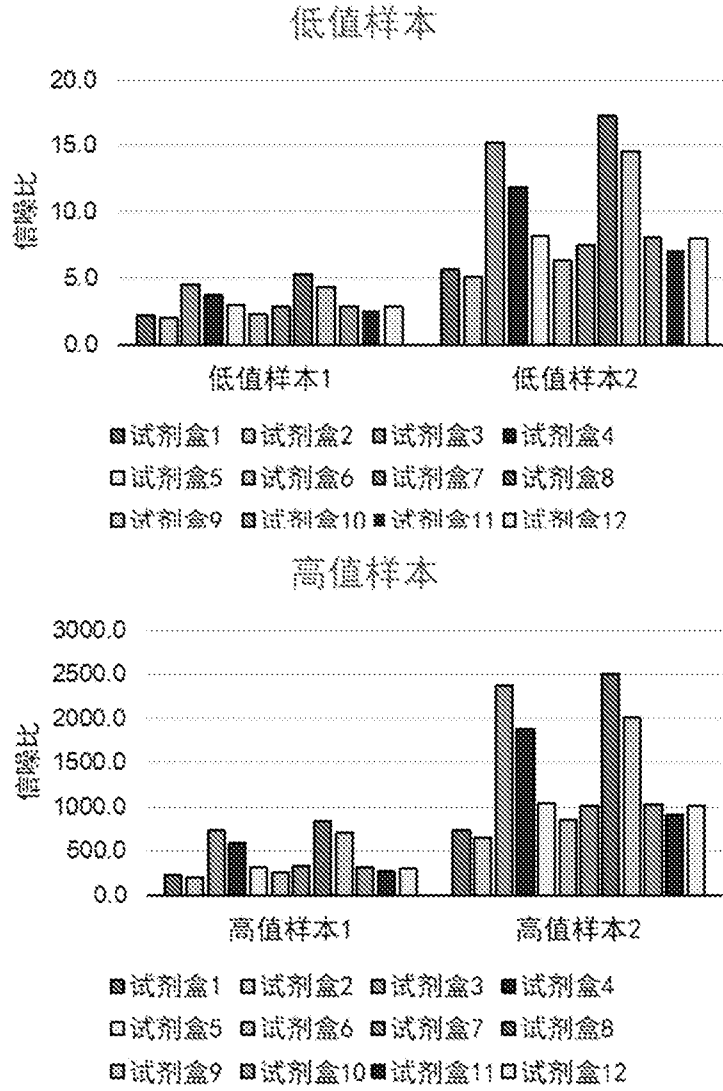


图 4

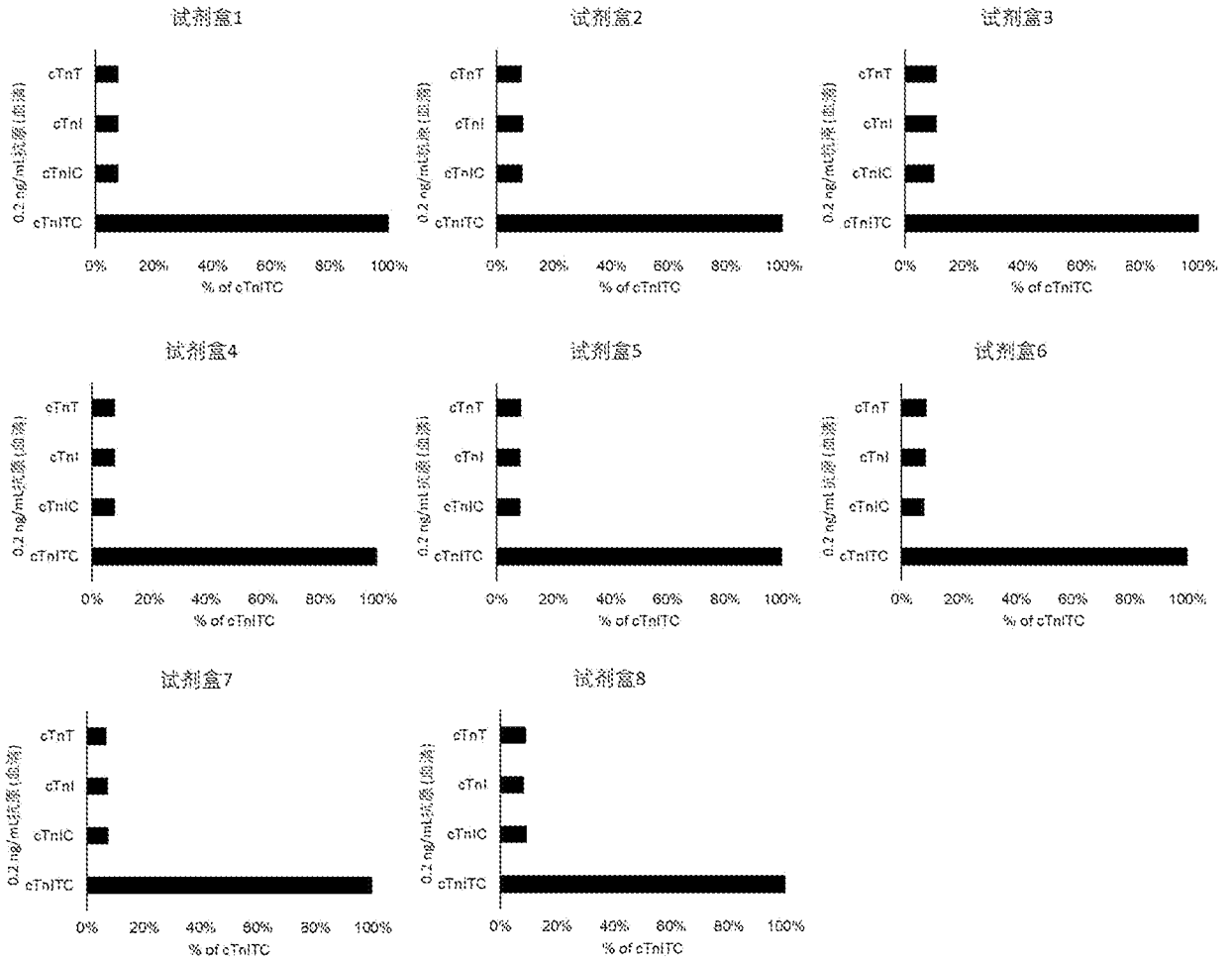


图 5

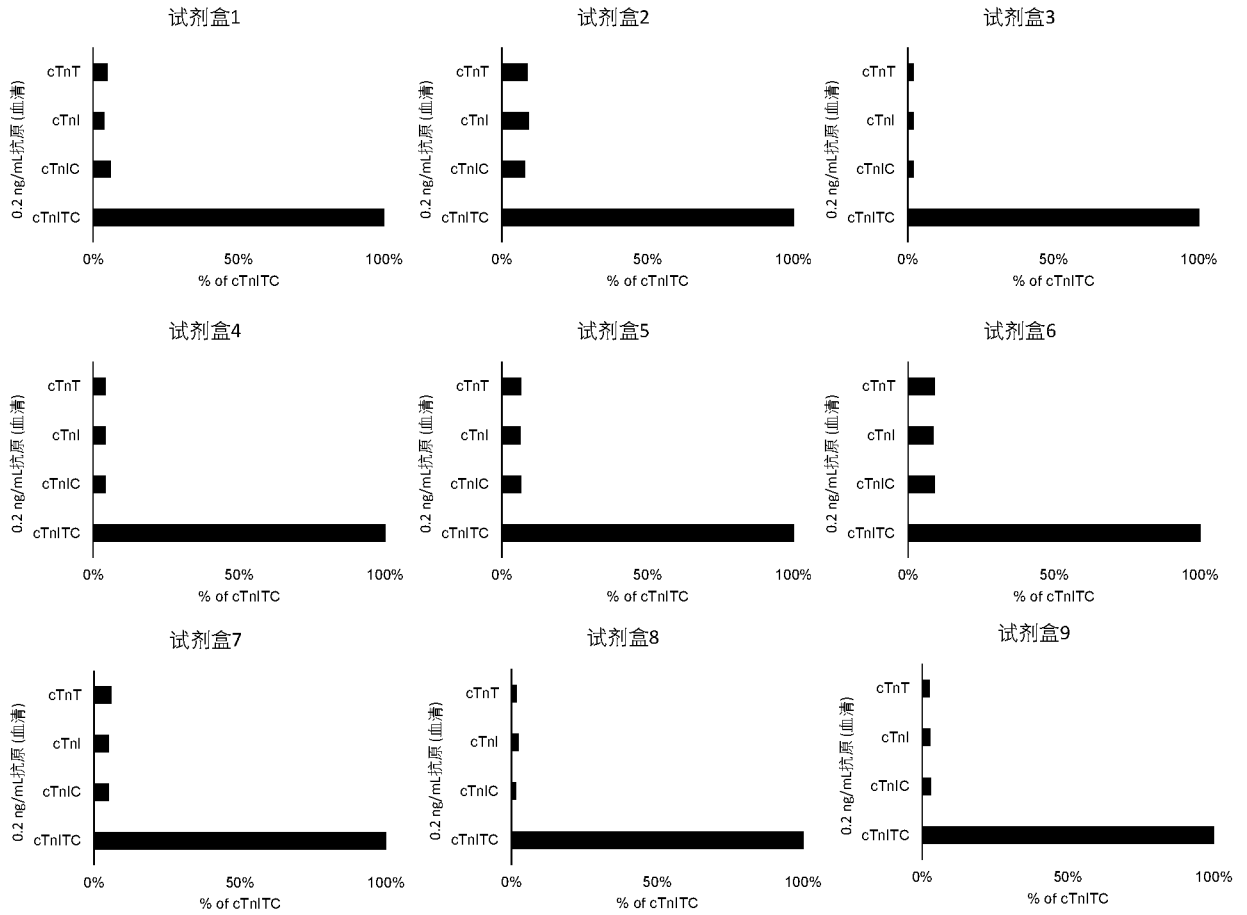


图 6

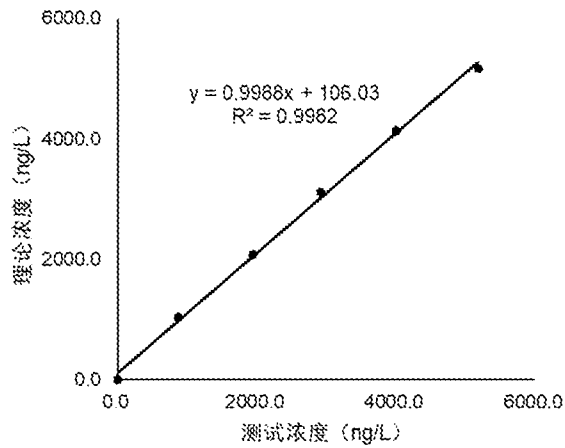


图 7

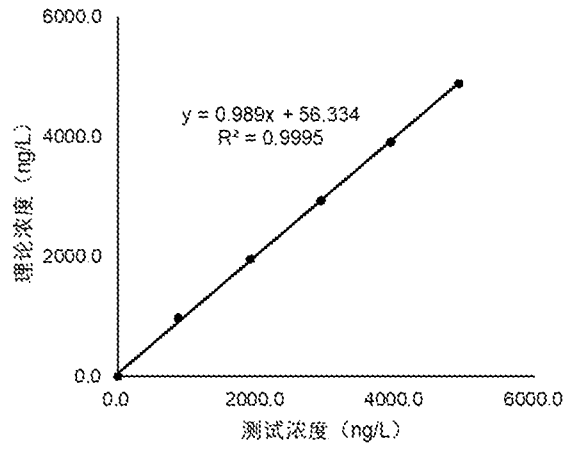


图 8

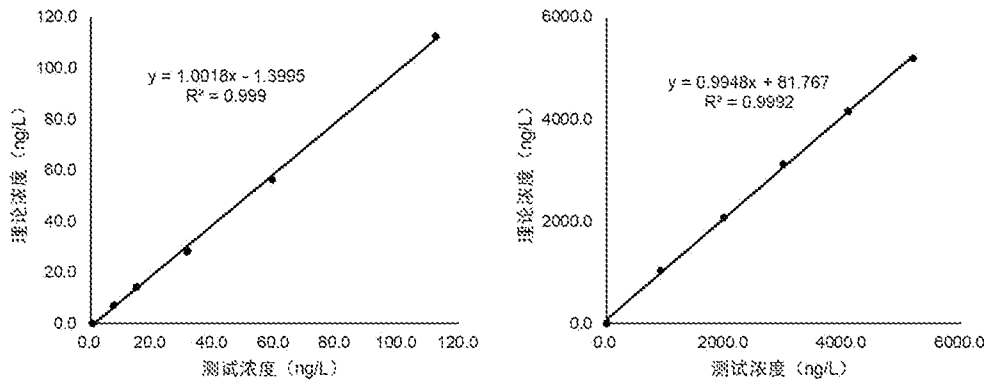


图 9

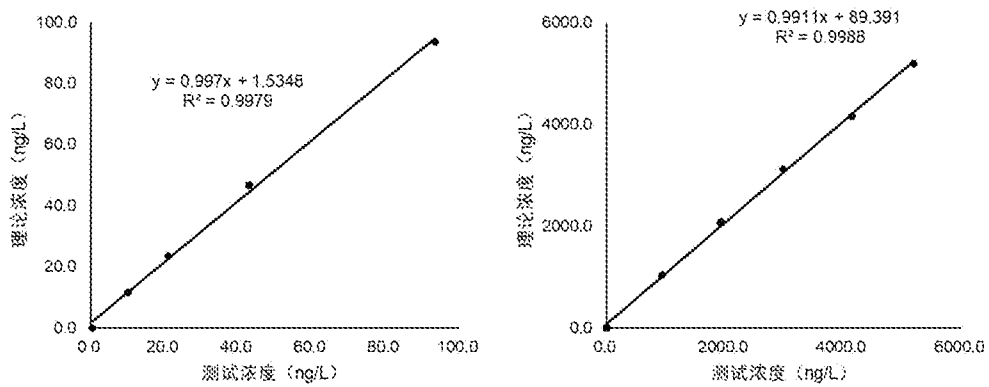


图 10

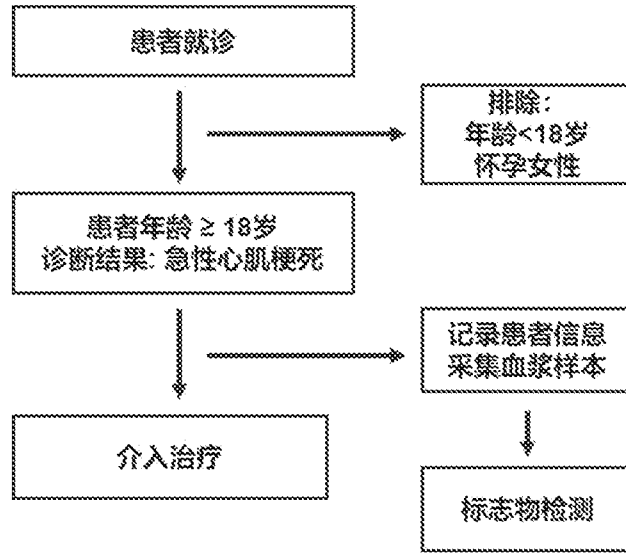


图 11

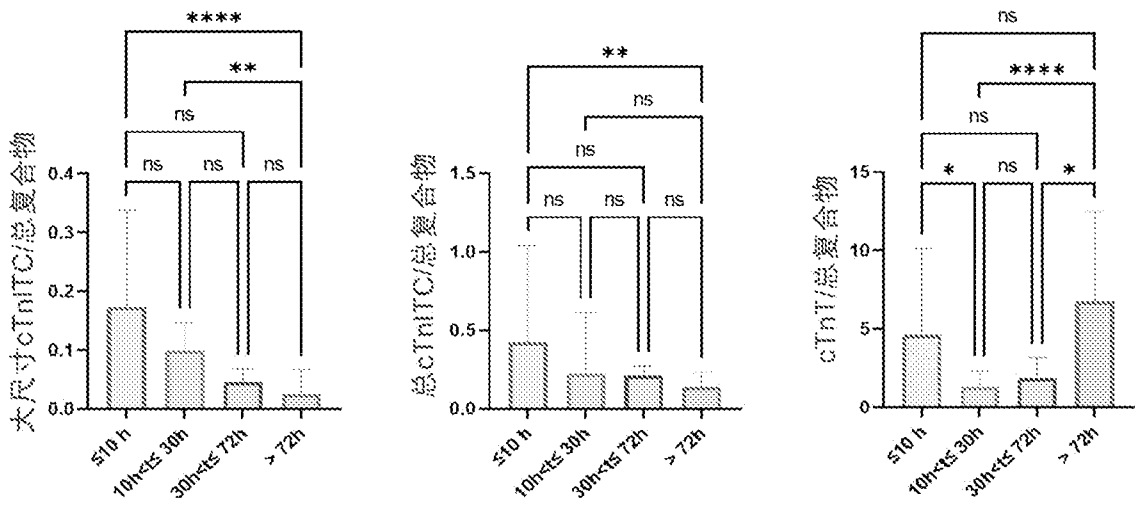


图12

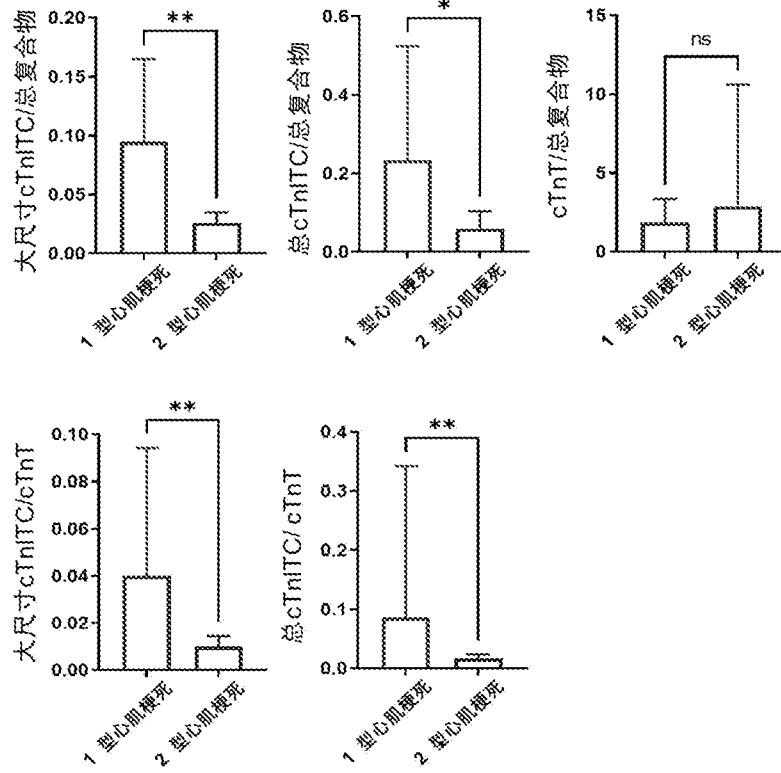


图 13

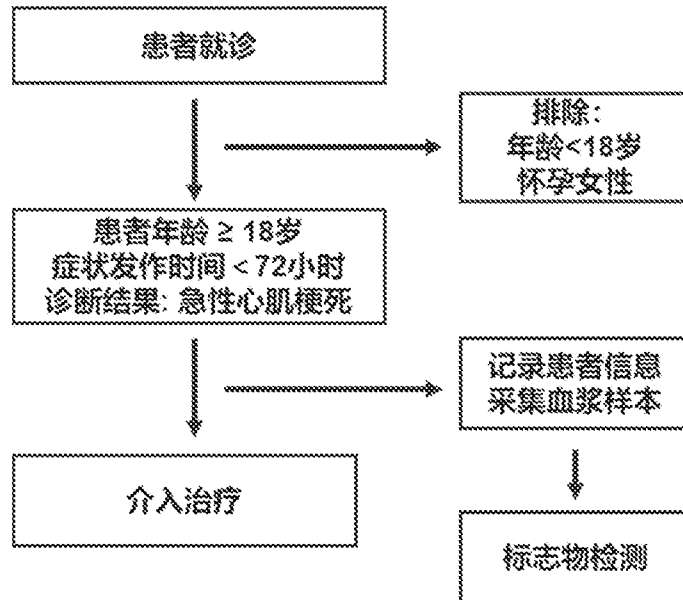


图 14

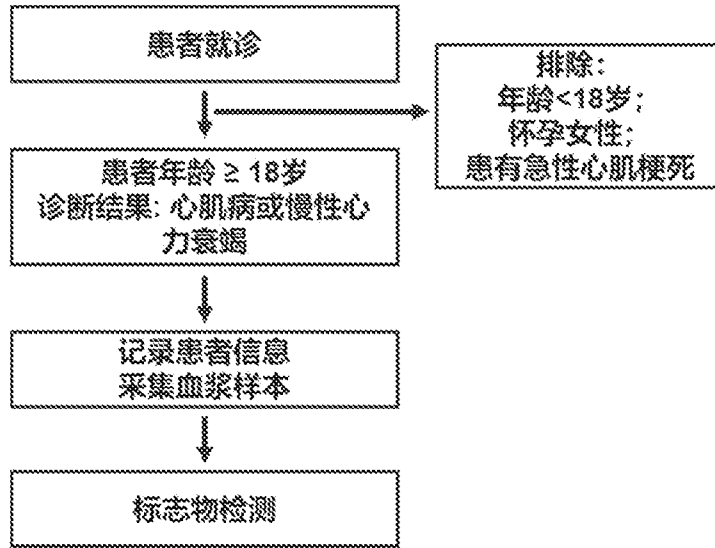


图15

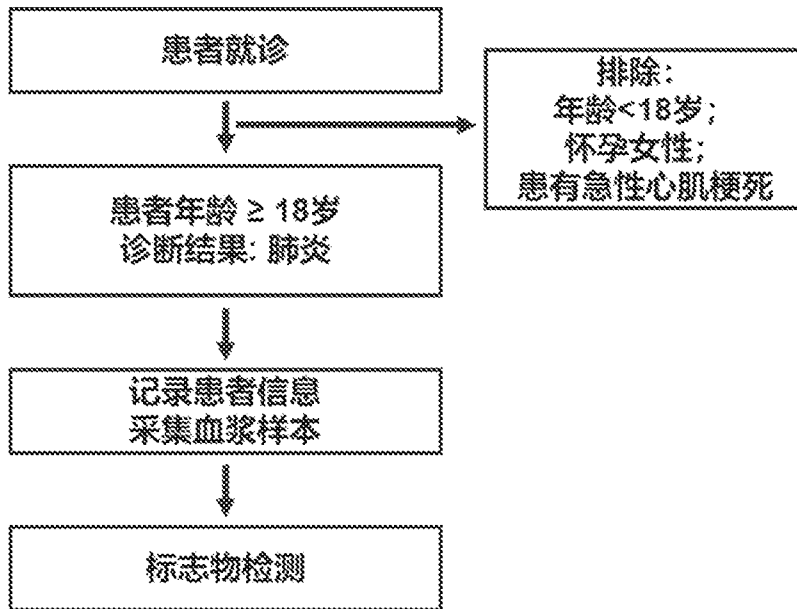


图16



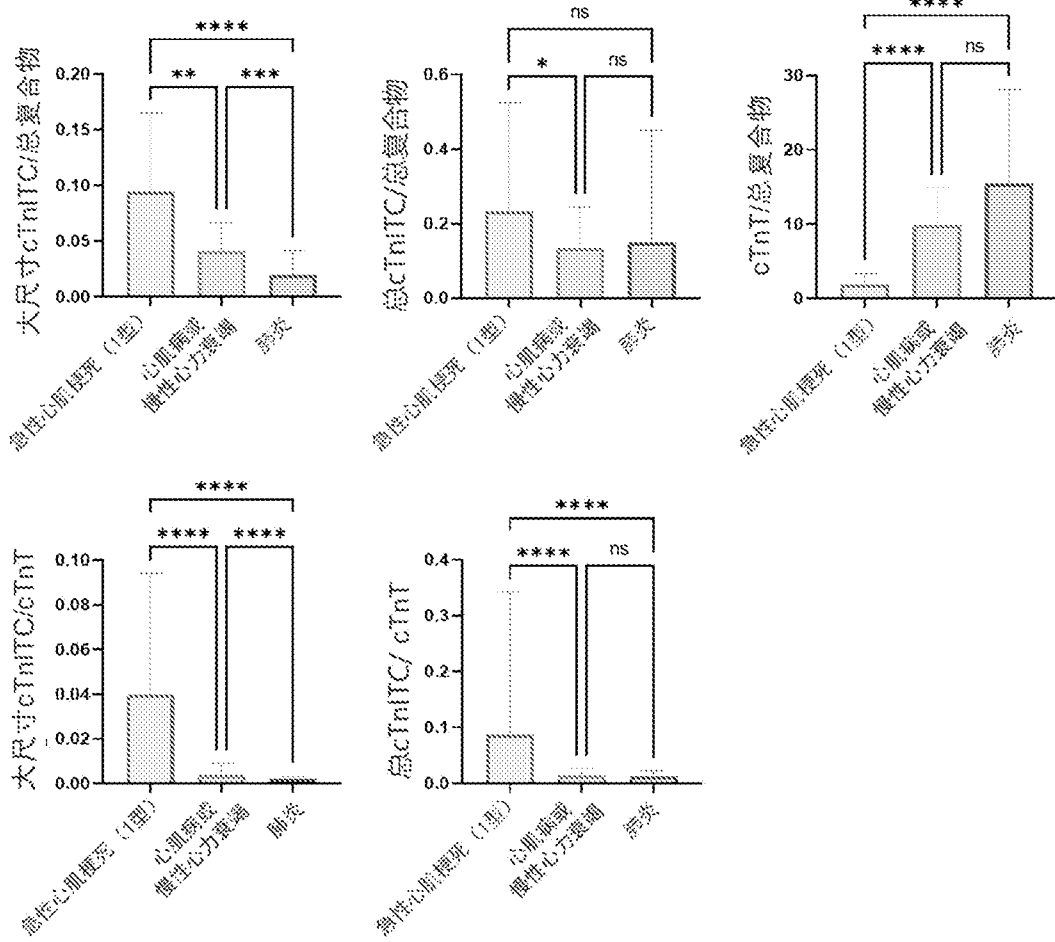


图17

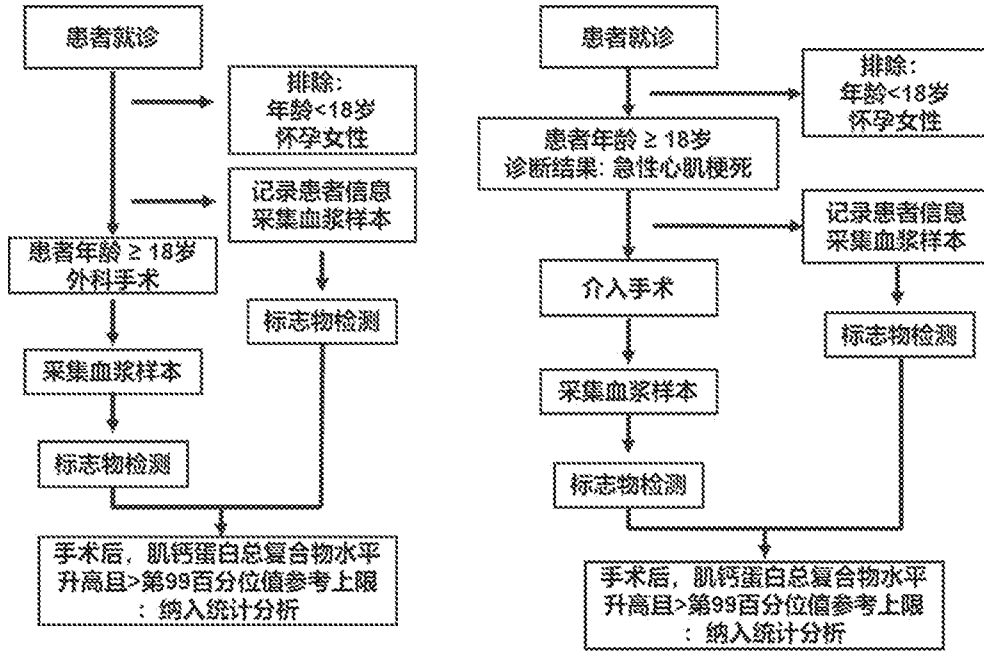


图18

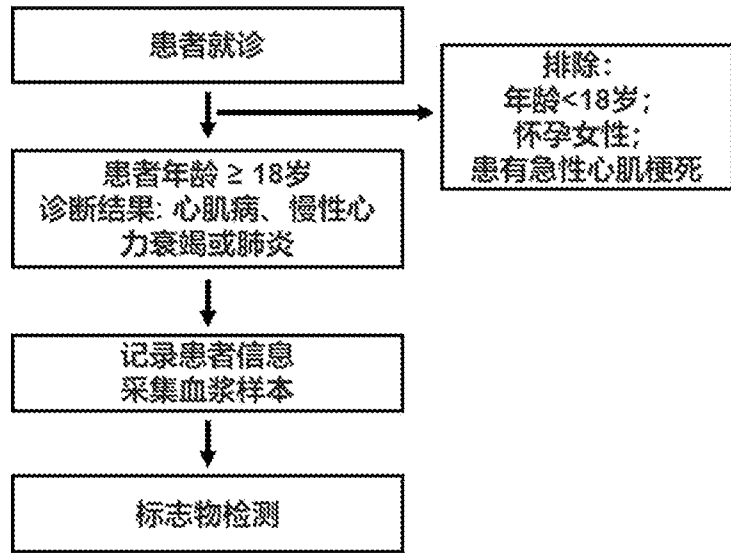


图19

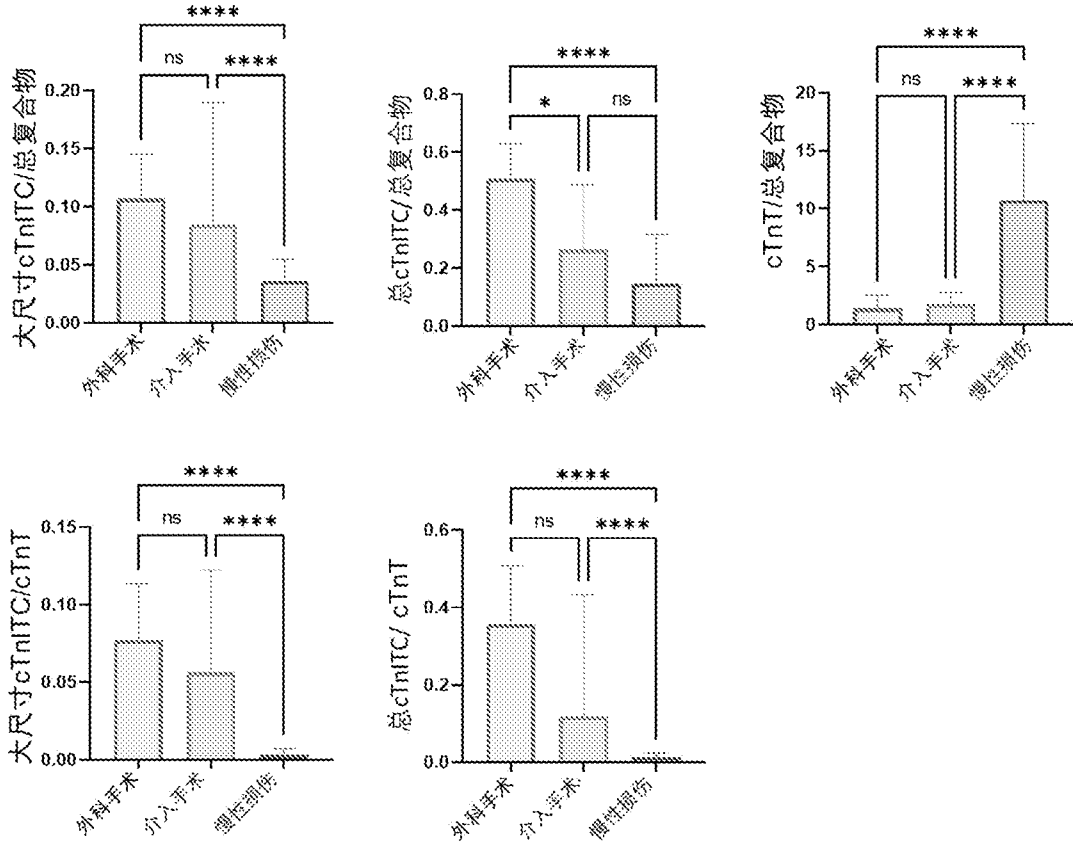


图20

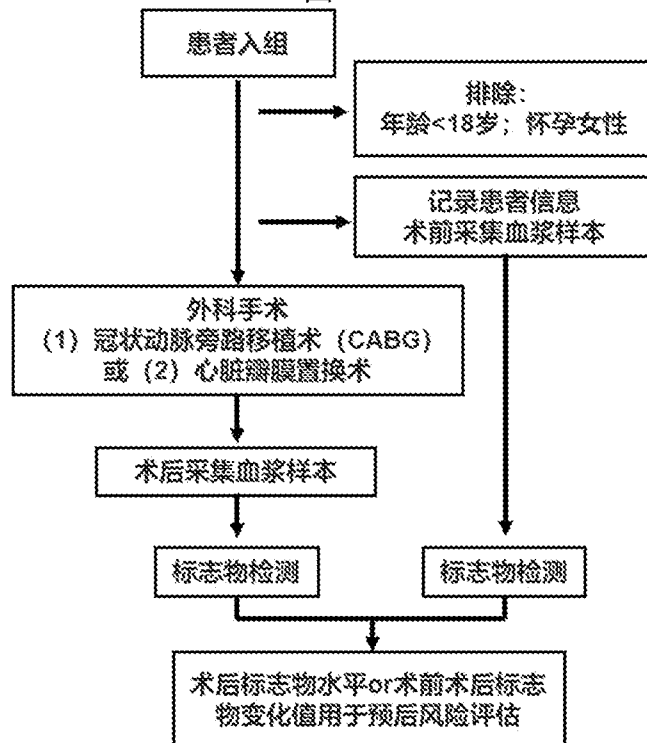


图21

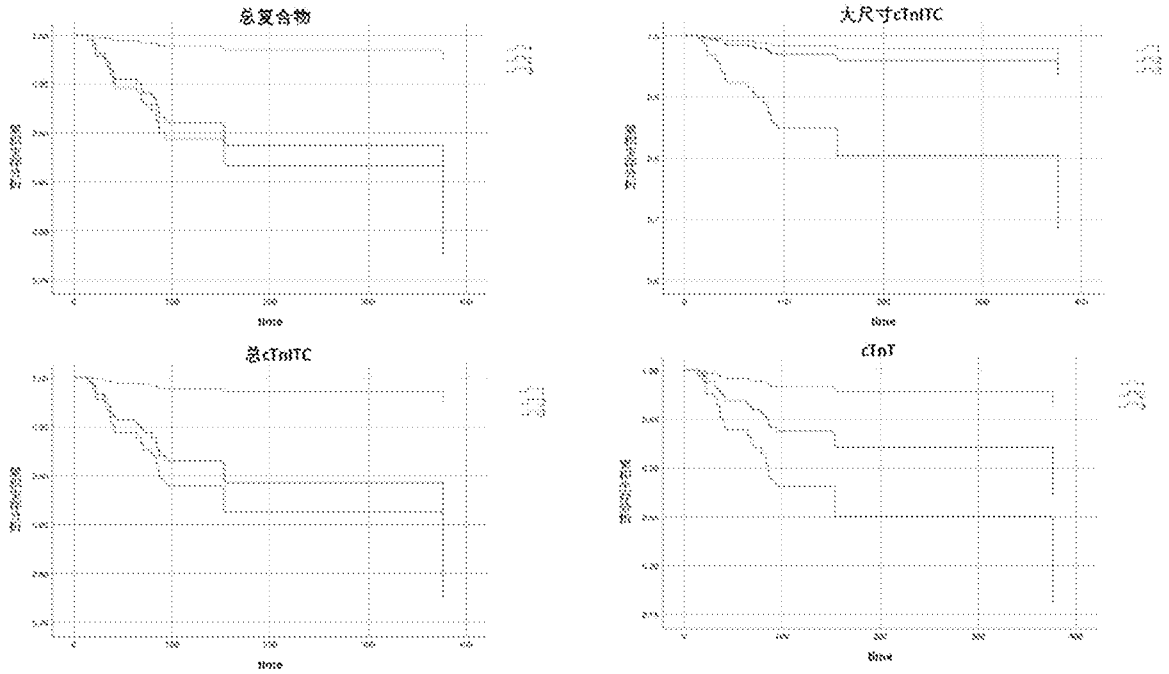


图22

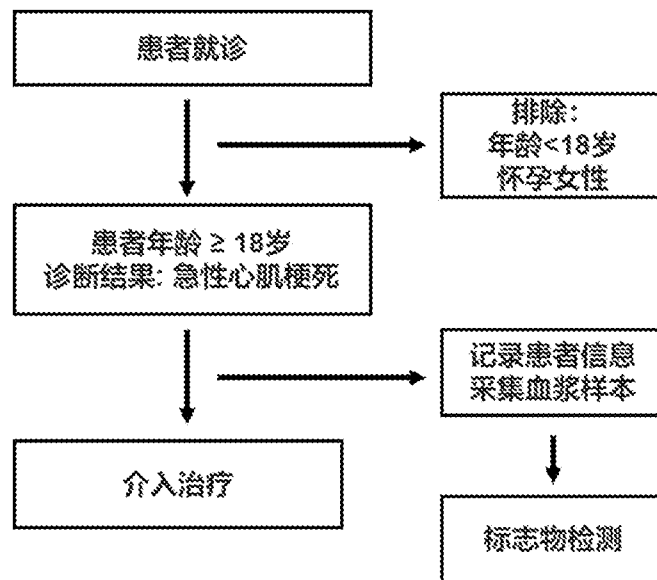


图23

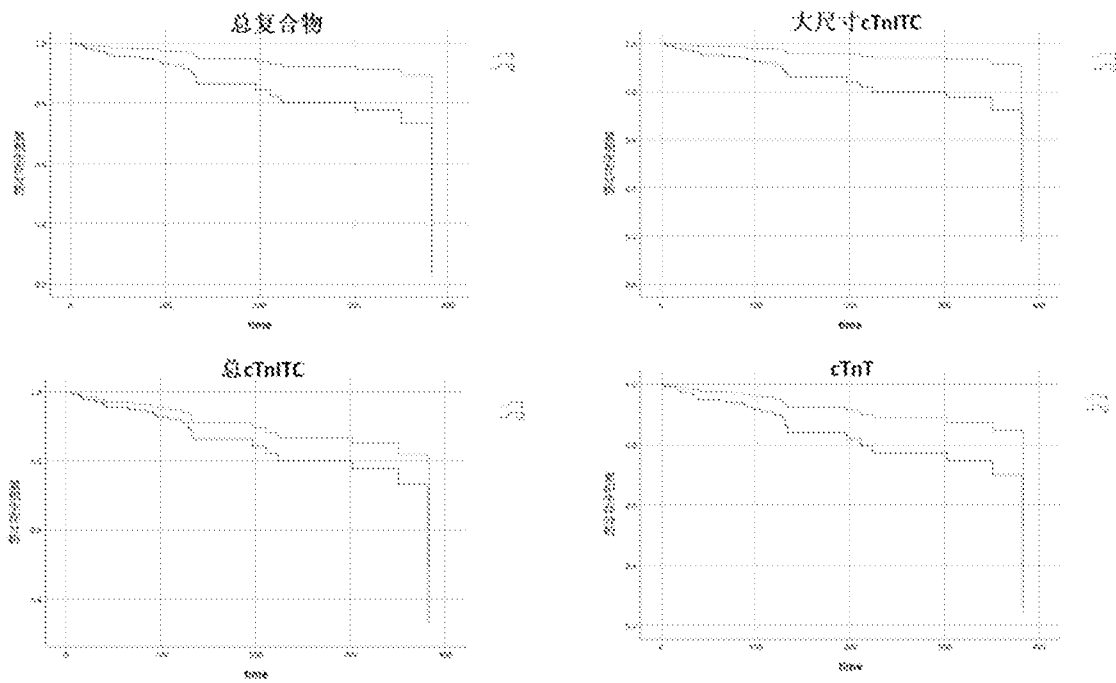


图 24

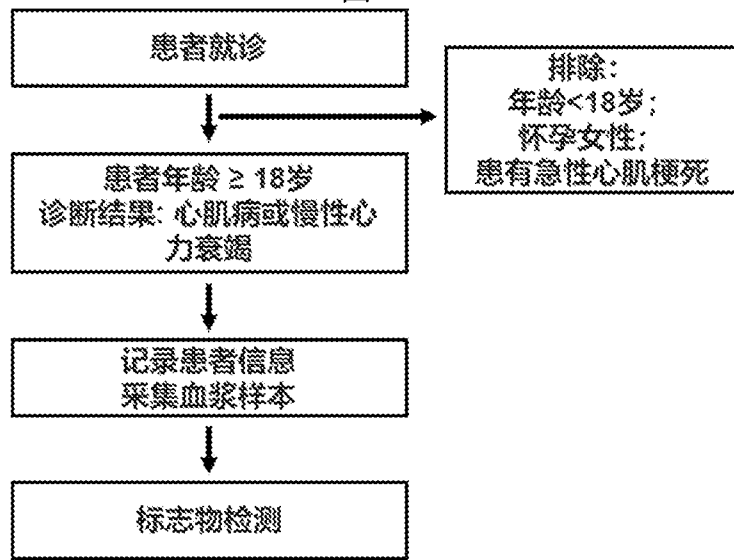


图25

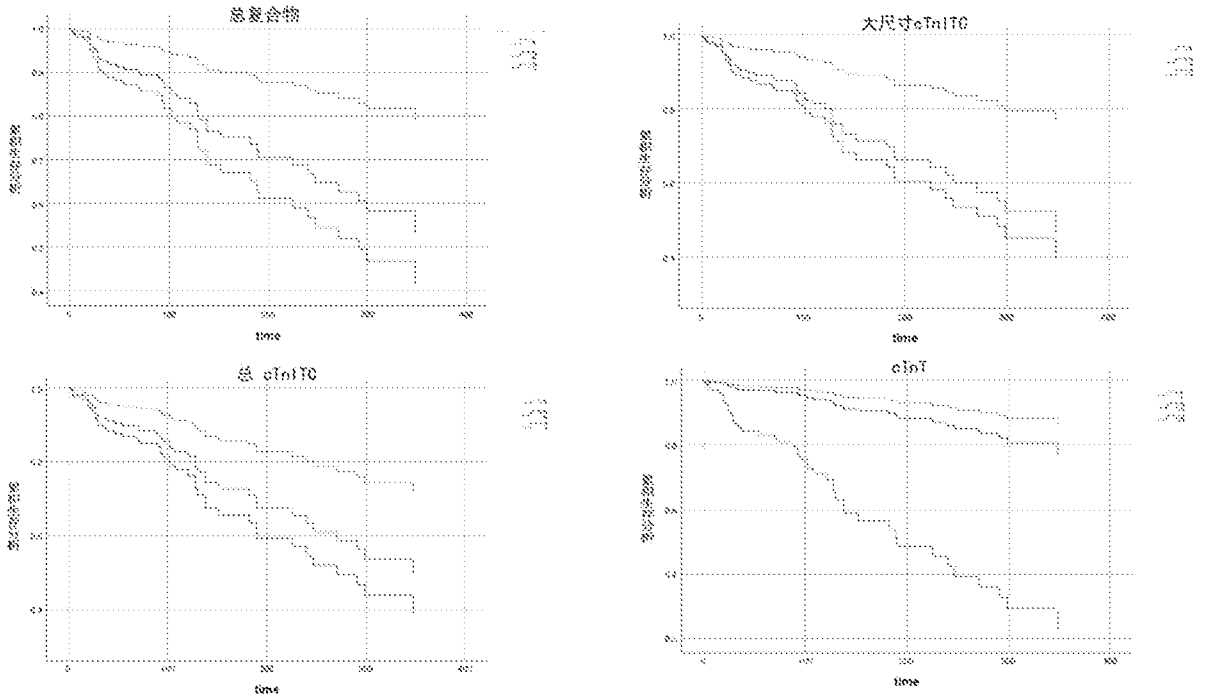


图 26

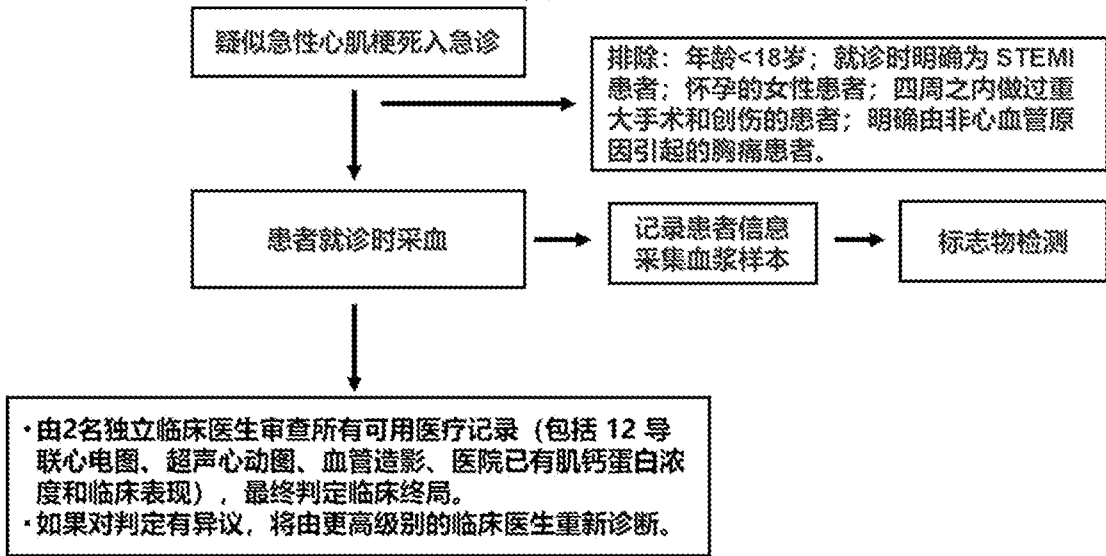


图 27

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2024/112205

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b>		
G01N 33/48(2006.01)i		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b>		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)		
IPC: G01N		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)		
CNTXT, ENTXT, ENTXTC, CNKI, Web of Science: 迈瑞, 张轶, 刘雨青, 李可, 心肌损伤, 心肌梗死, 肌钙蛋白, 尺寸, 大, 长, cTnI, cTnC, TnT, cTnT, 截断, 截取, 片段, 低分子量, 高分子量, 比例, 比值, 比率, Truncated Cardiac Troponin, AMI, size, low molecular weight, LMW, high molecular weight, HMW, complex, ternary, fragment, truncate+, concentration, ratio		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Vylegzhanina, A. V. et al. "Full-Size and Partially Truncated Cardiac Troponin Complexes in the Blood of Patients with Acute Myocardial Infarction" <i>Clinical Chemistry</i> , Vol. 65, No. 7, 01 July 2019 (2019-07-01), 882-892 ISSN: 0009-9147, abstract, and pages 883-889	1-4, 6-24, 26-31
Y	Vylegzhanina, A. V. et al. "Full-Size and Partially Truncated Cardiac Troponin Complexes in the Blood of Patients with Acute Myocardial Infarction" <i>Clinical Chemistry</i> , Vol. 65, No. 7, 01 July 2019 (2019-07-01), 882-892 ISSN: 0009-9147, abstract, and pages 883-889	5,25
Y	CN 1751128 A (BIOSITE INC.) 22 March 2006 (2006-03-22) description, paragraphs [0117]-[0120]	5,25
A	CN 110836973 A (ZHEJIANG BOSHI BIO-TECH CO., LTD.) 25 February 2020 (2020-02-25) entire document	1-31
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "D" document cited by the applicant in the international application "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
25 November 2024		25 November 2024
Name and mailing address of the ISA/CN		Authorized officer
China National Intellectual Property Administration (ISA/CN) China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing 100088		Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2024/112205

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2005164317 A1 (BIOSITE, INC.) 28 July 2005 (2005-07-28) entire document	1-31
A	US 2009233268 A1 (AXELA INC.) 17 September 2009 (2009-09-17) entire document	1-31
A	US 6174686 B1 (BIOSITE DIAGNOSTICS, INC.) 16 January 2001 (2001-01-16) entire document	1-31



**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**  
**Information on patent family members**

International application No.

**PCT/CN2024/112205**

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
CN	1751128	A	22 March 2006	JP	2009103721	A	14 May 2009
				US	2004121343	A1	24 June 2004
				US	7713705	B2	11 May 2010
-----							
CN	110836973	A	25 February 2020	None			
-----							
US	2005164317	A1	28 July 2005	US	2011143455	A1	16 June 2011
				US	8114612	B2	14 February 2012
				US	2010167307	A1	01 July 2010
				US	6991907	B1	31 January 2006
				US	2012129198	A1	24 May 2012
				US	7604946	B2	20 October 2009
				US	2009233268	A1	17 September 2009
				US	8338189	B2	25 December 2012
				US	2013196338	A1	01 August 2013
				US	8877516	B2	04 November 2014
				EP	2265950	A2	29 December 2010
				EP	2265950	B1	23 January 2019
-----							
US	6174686	B1	16 January 2001	US	6939678	B1	06 September 2005
				US	6579687	B1	17 June 2003
-----							

<p>A. 主题的分类</p> <p>G01N 33/48(2006.01)i</p> <p>按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类</p>																	
<p>B. 检索领域</p> <p>检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)</p> <p>IPC: G01N</p> <p>包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献</p> <p>在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))</p> <p>CNTEXT, ENTXT, ENTXTC, CNKI, Web of Science: 迈瑞, 张轶, 刘雨青, 李可, 心肌损伤, 心肌梗死, 肌钙蛋白, 尺寸, 大, 长, cTnI, cTnC, TnT, cTnT, 截断, 截取, 片段, 低分子量, 高分子量, 比例, 比值, 比率, Truncated Cardiac Troponin, AMI, size, low molecular weight, LMW, high molecular weight, HMW, complex, ternary, fragment, truncate+, concentration, ratio</p>																	
<p>C. 相关文件</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>类型*</th> <th>引用文件, 必要时, 指明相关段落</th> <th>相关的权利要求</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>X</td> <td>Alexandra V. Vylegzhanina 等. "Full-Size and Partially Truncated Cardiac Troponin Complexes in the Blood of Patients with Acute Myocardial Infarction" Clinical Chemistry, 第65卷, 第7期, 2019年7月1日 (2019 - 07 - 01), 882-892 ISSN: 0009-9147, 摘要、第883-889页</td> <td>1-4,6-24,26-31</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>Alexandra V. Vylegzhanina 等. "Full-Size and Partially Truncated Cardiac Troponin Complexes in the Blood of Patients with Acute Myocardial Infarction" Clinical Chemistry, 第65卷, 第7期, 2019年7月1日 (2019 - 07 - 01), 882-892 ISSN: 0009-9147, 摘要、第883-889页</td> <td>5,25</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>CN 1751128 A (博适公司) 2006年3月22日 (2006 - 03 - 22) 说明书第[0117]-[0120]段</td> <td>5,25</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 110836973 A (浙江博实生物科技有限公司) 2020年2月25日 (2020 - 02 - 25) 全文</td> <td>1-31</td> </tr> </tbody> </table>			类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求	X	Alexandra V. Vylegzhanina 等. "Full-Size and Partially Truncated Cardiac Troponin Complexes in the Blood of Patients with Acute Myocardial Infarction" Clinical Chemistry, 第65卷, 第7期, 2019年7月1日 (2019 - 07 - 01), 882-892 ISSN: 0009-9147, 摘要、第883-889页	1-4,6-24,26-31	Y	Alexandra V. Vylegzhanina 等. "Full-Size and Partially Truncated Cardiac Troponin Complexes in the Blood of Patients with Acute Myocardial Infarction" Clinical Chemistry, 第65卷, 第7期, 2019年7月1日 (2019 - 07 - 01), 882-892 ISSN: 0009-9147, 摘要、第883-889页	5,25	Y	CN 1751128 A (博适公司) 2006年3月22日 (2006 - 03 - 22) 说明书第[0117]-[0120]段	5,25	A	CN 110836973 A (浙江博实生物科技有限公司) 2020年2月25日 (2020 - 02 - 25) 全文	1-31
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求															
X	Alexandra V. Vylegzhanina 等. "Full-Size and Partially Truncated Cardiac Troponin Complexes in the Blood of Patients with Acute Myocardial Infarction" Clinical Chemistry, 第65卷, 第7期, 2019年7月1日 (2019 - 07 - 01), 882-892 ISSN: 0009-9147, 摘要、第883-889页	1-4,6-24,26-31															
Y	Alexandra V. Vylegzhanina 等. "Full-Size and Partially Truncated Cardiac Troponin Complexes in the Blood of Patients with Acute Myocardial Infarction" Clinical Chemistry, 第65卷, 第7期, 2019年7月1日 (2019 - 07 - 01), 882-892 ISSN: 0009-9147, 摘要、第883-889页	5,25															
Y	CN 1751128 A (博适公司) 2006年3月22日 (2006 - 03 - 22) 说明书第[0117]-[0120]段	5,25															
A	CN 110836973 A (浙江博实生物科技有限公司) 2020年2月25日 (2020 - 02 - 25) 全文	1-31															
<p><input checked="" type="checkbox"/> 其余文件在C栏的续页中列出。 <input checked="" type="checkbox"/> 见同族专利附件。</p>																	
<p>* 引用文件的具体类型:</p> <p>“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件</p> <p>“D” 申请人在国际申请中引证的文件</p> <p>“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利</p> <p>“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的)</p> <p>“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件</p> <p>“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件</p> <p>“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件</p> <p>“X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性</p> <p>“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性</p> <p>“&amp;” 同族专利的文件</p>																	
<p>国际检索实际完成的日期</p> <p>2024年11月25日</p>		<p>国际检索报告邮寄日期</p> <p>2024年11月25日</p>															
<p>ISA/CN的名称和邮寄地址</p> <p>中国国家知识产权局 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088</p>		<p>授权官员</p> <p>刘倩</p> <p>电话号码 (+86) 010-53962596</p>															

C. 相关文件		
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
A	US 2005164317 A1 (BIOSITE, INC.) 2005年7月28日 (2005 - 07 - 28) 全文	1-31
A	US 2009233268 A1 (AXELA INC.) 2009年9月17日 (2009 - 09 - 17) 全文	1-31
A	US 6174686 B1 (BIOSITE DIAGNOSTICS, INC.) 2001年1月16日 (2001 - 01 - 16) 全文	1-31

国际检索报告  
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2024/112205

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	1751128	A	2006年3月22日	JP	2009103721	A	2009年5月14日
				US	2004121343	A1	2004年6月24日
				US	7713705	B2	2010年5月11日
-----							
CN	110836973	A	2020年2月25日	无			
-----							
US	2005164317	A1	2005年7月28日	US	2011143455	A1	2011年6月16日
				US	8114612	B2	2012年2月14日
				US	2010167307	A1	2010年7月1日
				US	6991907	B1	2006年1月31日
				US	2012129198	A1	2012年5月24日
				US	7604946	B2	2009年10月20日
-----							
US	2009233268	A1	2009年9月17日	WO	2009111033	A2	2009年9月11日
				US	8338189	B2	2012年12月25日
				US	2013196338	A1	2013年8月1日
				US	8877516	B2	2014年11月4日
				EP	2265950	A2	2010年12月29日
				EP	2265950	B1	2019年1月23日
-----							
US	6174686	B1	2001年1月16日	US	6939678	B1	2005年9月6日
				US	6579687	B1	2003年6月17日
-----							