

• 短篇论著 •

异嗜性抗体干扰甲状腺激素检测结果的临床病例分析*

邢淑清¹, 艾合买提江·吐乎提¹, 魏子祥², 王新玲¹, 哈尼克孜·阿不都艾尼¹, 郭艳英^{1△}

(1. 新疆维吾尔自治区人民医院内分泌科, 新疆乌鲁木齐 830001; 2 新源县人民医院内分泌科, 新疆伊犁 835800)

摘要:目的 分析和处理异嗜性抗体(HA)干扰甲状腺激素检测结果。方法 选取体检健康者血清标本作为对照标本,与病例血清标本同做免疫球蛋白 G(IgG)亚型、免疫球蛋白 A(IgA)、免疫球蛋白 M(IgM)、C-反应蛋白、类风湿因子、抗链球菌溶血素 O、转铁蛋白、总蛋白、清蛋白、球蛋白、白球比的测定;采用聚乙二醇(PEG)沉降法对二者标本处理后,再次测定二者的甲状腺激素水平,并计算回收率。结果 排除 IgG、链霉亲和素、类风湿因子、血清蛋白质等因素对甲状腺激素检测造成的影响;对照标本三碘甲状腺原氨酸(T₃)、甲状腺素(T₄)、游离三碘甲状腺原氨酸(FT₃)、游离甲状腺素(FT₄)、促甲状腺激素(TSH),PEG 沉降回收率均 >60%,说明没有大分子蛋白的干扰;病例标本 T₃、T₄、FT₃、FT₄ 的 PEG 沉降回收率均 <40%,说明存在大分子蛋白的干扰,TSH 的 PEG 沉降回收率为 58.7%,可能存在蛋白的干扰。结论 该患者甲状腺激素各指标检测受到 HA 的干扰,当发现患者临床表现和实验室数据不一致时,在排除其他干扰因素的情况下,可采用 PEG 沉降法以有效解决此类干扰作用。

关键词:异嗜性抗体; 甲状腺激素; 免疫检测; 干扰

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2020.04.024

中图法分类号:R447

文章编号:1673-4130(2020)04-0478-03

文献标识码:B

甲状腺功能的实验室检测是临床诊断、筛查和治疗甲状腺疾病的首选指标,但在临床工作中,会出现甲状腺功能检测与临床表现不相符,而导致误诊。在甲状腺激素检测中,影响免疫检测的因素较多,有机体内在的因素(年龄、性别、心理、运动、妊娠、饮食、肥胖、疾病影响、先天性、自身免疫性等)、外界影响因素(环境、吸烟、药物、化学物质和电离辐射等)和人为因素(标本采集时间、标本保存、标本采集的质量、抗凝剂及添加物等)^[1]。近年来,在免疫测定中,自身免疫性因素如异嗜性抗体(HA)的干扰率不高,容易被忽视。

1 资料与方法

1.1 一般资料 患者女性,54岁,哈萨克族,2015年初期开始无明显诱因出现颈部增粗,可随吞咽上下活动,轻度压痛,否认怕冷、乏力、头晕,无怕热、心悸、多汗、手抖等不适。2015年11月就诊于当地医院,检测甲状腺功能异常。促甲状腺激素(TSH)100 IU/mL;游离三碘甲状腺原氨酸(FT₃)1.76 pmol/mL、游离甲状腺素(FT₄)27.81 pmol/dL、抗甲状腺球蛋白抗体(TGAb)100.20 IU/mL、抗甲状腺过氧化物酶抗体(TPO)600.00 IU/mL,给予优甲乐 25 μg 每日 1 次口服,之后患者按甲状腺功能结果,将药物剂量逐渐增加到 125 μg,自觉服药后颈部增粗减轻,但出现多

汗、心悸不适,偶感全身皮肤干燥,体质量增加 12 kg。患者第 2 次于当地医院检测甲状腺功能 TSH 100.00 IU/mL,FT₃ 9.34 pmol/mL,FT₄ 100.00 pmol/dL、TGAb 122.3 IU/mL,TPO 161.90 IU/mL,医生建议停用优甲乐治疗,自觉停药后仍有心悸、多汗,体质量减轻 10 kg。于 2018 年 7 月 24 日以颈部增粗伴甲状腺功能异常 3 年为主诉,以“甲状腺机能减退症”入住新疆维吾尔自治区人民医院,血压 112/69 mm Hg,体质量 71.7 kg,腹围 94 cm,体质量指数 26.7 kg/m²。

1.2 仪器与试剂 三碘甲状腺原氨酸(T₃)、甲状腺素(T₄)、FT₃、FT₄、TSH 的检测,使用全自动化学发光免疫分析仪(购自中国上海罗氏诊断有限公司)及其配套试剂;CobasE602, T₃、T₄、FT₃、FT₄ 试剂盒分别由链霉亲和素包被磁珠的微粒、钆复合物标记的 T₃、T₄、FT₃、FT₄ 单隆羊抗体、生物素化 T₃、T₄、FT₃、FT₄ 抗体组成;TSH 试剂盒由链霉亲和素包被磁珠的微粒、钆复合物标记的 TSH 单隆鼠抗体、生物素化 TSH 抗体组成。

1.3 方法

1.3.1 排除实验室检测误差 入院后完善各项检查,出现甲状腺功能检查结果与临床症状不符,为避免实验室误差,更换检测仪器、试剂复查甲状腺功能,更换前后甲状腺功能检测结果无明显改变。临床初

* 基金项目:自治区科技基础条件平台建设项目(PT1601)。

△ 通信作者, E-mail: guozeyang@126.com。

本文引用格式:邢淑清,艾合买提江·吐乎提,魏子祥,等.异嗜性抗体干扰甲状腺激素检测结果的临床病例分析[J].国际检验医学杂志,

步诊断:(1)疑似甲状腺激素抵抗综合征;(2)疑似垂体 TSH 瘤。

1.3.2 排除疾病垂体 TSH 瘤的影响 甲状腺激素抵抗综合征是由于靶器官对甲状腺激素的反应性降低,而产生的以血清 FT3 或 FT4 升高,伴有不适当(升高或正常)的 TSH 水平为基本特征的一组疾病;垂体 TSH 瘤可表现为甲状腺毒症和肿瘤压迫鞍区周围结构产生的占位效应,临床上以 FT3、FT4 升高伴 TSH 不被抑制。行大剂量地塞米松抑制试验(醋酸地塞米松片 2 mg 口服,每次间隔 6 h,持续 3 d),试验前后复查甲状腺功能,实验前 TSH>100 IU/mL,试验后 TSH 29.74 IU/mL, TSH 明显被抑制, T3、T4、FT3、FT4 无变化,符合甲状腺激素抵抗综合征的表现;影像学检:RTH 无异常,行奥曲肽抑制试验(奥曲肽注射液 1 mL 皮下注射,每次间隔 8 h,持续 3 d),试验前后复查甲状腺功能, T3、T4、FT3、FT4、TSH 均无明显改变, TSH 未被抑制,排除垂体 TSH 瘤。

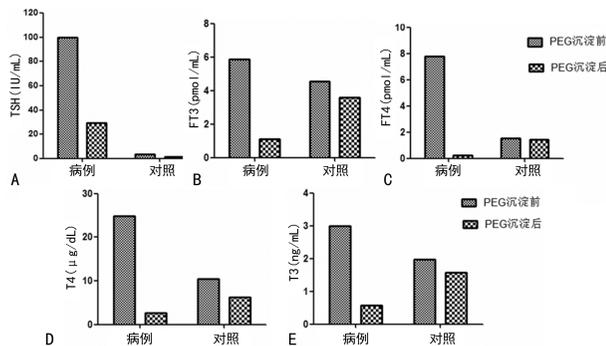
1.3.3 排除遗传因素 经患者女儿知情同意,对其女儿采集静脉血做 FT3、FT4、TSH 的检测,均在参考范围。

1.3.4 排除类风湿因子、血清蛋白质、免疫球蛋白对甲状腺激素检测的干扰 选取 1 例甲状腺激素检测在正常范围的健康者血清标本作为对照标本,与病例血清标本同时送检做免疫球蛋白 G(IgG)亚型、免疫球蛋白 A(IgA)、免疫球蛋白 M(IgM)、C-反应蛋白、类风湿因子、抗链球菌溶血素 O、转铁蛋白、总蛋白、清蛋白、球蛋白、白球比的测定,对照标本与病例标本的各项检测结果均在参考范围内。

1.3.5 聚乙二醇(PEG)沉降法 PEG 6000 处理标本方法:25 g PEG 6000+60 mL(蒸馏水/去离子水)混匀 15 min,然后加蒸馏水/去离子水到 100 mL,配制成 25% PEG 溶液储存在 20~25℃,稳定 7 d,取 180 μL 标本+180 μL 25%PEG 6000 溶液(1:1),旋转振荡器混匀 10 s,3 000 r/min 离心 5 min,取上清液待测。将病例标本与对照标本做 PEG 处理,检测甲状腺激素水平,并计算 PEG 沉降回收率。

2 结 果

排除 IgG、链霉亲和素、类风湿因子、血清蛋白质等因素对甲状腺激素检测造成的影响。PEG 沉降回收率(%)=PEG 沉降处理后的检测结果×2/处理前检测结果×100%。对照标本 T3、T4、FT3、FT4、TSH 的 PEG 沉降回收率均>60%,说明没有大分子蛋白的干扰;病例标本 T3、T4、FT3、FT4 的 PEG 沉降回收率均<40%,说明存在大分子蛋白的干扰, TSH 的 PEG 沉降回收率为 58.7%,可能存在蛋白的干扰。见图 1、2。



注:A 表示 TSH 水平比较;B 表示 FT3 水平比较;C 表示 FT4 水平比较;D 表示 T4 水平比较;E 表示 T3 水平比较。

图 1 血清标本 PEG 6000 沉淀前后甲状腺功能各指标水平的比较

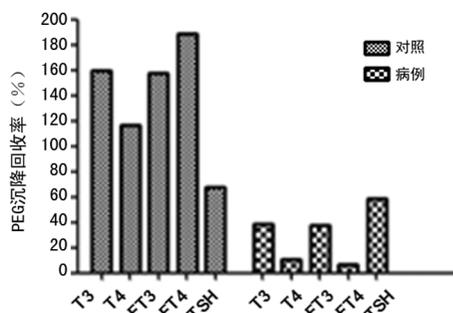


图 2 血清标本甲状腺功能各指标的 PEG 沉淀回收率比较

3 讨 论

甲状腺激素的测定多采用免疫标记法,随着免疫检测技术的发展,特异度、灵敏度均得到很大提高,并且其标志物制备简易、有效期长,无污染,实现了自动化分析,但在一定条件下,免疫检测仍然会受到干扰因素的影响而导致结果假性升高或降低,HA 是影响免疫测定的主要因素之一。

HA 是存在于人类血清中,属人体内源性抗体,具有相对稳定的化学结构,相对分子质量约 160×10^3 ,由已知或未知的抗原物质刺激人体产生的,与啮齿类动物抗体结合的一类抗体,又称为非特异性抗原产生的抗体应答。这些抗体会干扰免疫检验体系,造成与实际分析物水平无关的检测值。HA 分为天然抗体和自身抗体。天然抗体低亲和力,低结合力,可以和多种抗原及独特型抗体的可变区发生反应。HA 的来源:通常是有人类直接接触动物、进食受污染的食品、未经高温消毒的鲜奶、接受免疫疗法或接种动物血清或组织的疫苗、感染、输血、过敏、血液透析、胃肠炎。HA 最常见的是人抗小鼠抗体(HAMA)^[2]。HA 可以靶向人抗原^[3],如类风湿因子。有报道指出,类风湿因子不仅能与人 IgG 结合,而且还能与用不同种属的免疫球蛋白如鼠 IgG、山羊 IgG 和兔 IgG 制备成的抗体试剂发生交叉反应,从而干扰甲状腺功能测定结果^[4]。有研究表明,类风湿因子干扰甲状腺激素测试及 TSH 和三酰甘油^[5-7]。HAMA 干扰主要

影响使用鼠源单克隆抗体的非竞争性免疫测定法^[8], 基于采用高亲和力抗原多克隆抗体试剂的竞争法很少受到影响。HA 在使用免疫法检测甲状腺激素时可对其检测造成影响^[9]。其原因是 HA 可与捕获抗体和标记抗体结合造成蛋白集聚所致。HA 可以结合于捕获抗体与标价抗体之间, 这种非特异性结合的结果导致激素的检测结果偏高; 另一种情况下, HA 仅与捕获抗体结合, 这种结合使抗体可变区域的形态发生改变或空间位阻碍被分析物与捕获抗体的结合, 导致激素的检测结果偏低。HA 或 HAMA 的干扰通常对一种或多种分析物造成错误的高值结果, 假性低值结果较不常见^[10]。HAMA 影响 TSH、FT4 的测定, HAMA 桥联介导引起假阳性结果, 而 HAMA 封闭抗体则导致假阴性结果。

本文患者家中饲养羊, 经常接触动物, 养宠物时, 人体产生抗动物(羊)抗体, 检测试剂多含有动物源性抗体(本实验室检测试剂分别有 T3、T4、FT3、FT4 单克隆羊抗体组成), 当试剂与人体产生的抗动物抗体结合后, 就会使结果升高, 产生假阳性。CHIN 等^[11]报道了 1 例患者, 因其体内产生了抗动物(猫)抗体, 导致 T3、T4、FT3、FT4 假性升高。MONCHAMP 等^[12]在以绵羊抗血清做包被抗体时, 发现由于待检血清中存在抗绵羊抗体而引起 T3、T4、FT3 及 FT4 假性升高。最近接受疫苗注射、输血或单克隆抗体及接触动物的患者, 特别容易引起诱导的 HA 和 HAMA 干扰^[13]。TSH 的 PEG 沉降回收率为 58.7%, 可能存在大分子蛋白的干扰, HA 最常见的是 HAMA, HAMA 干扰主要影响使用鼠源单克隆抗体的非竞争性免疫测定法, 而本实验室 TSH 的试剂盒有 TSH 单克隆鼠抗体组成, 检测原理为夹心免疫测定法, 患者体内是否存在 HAMA, 是否对其有干扰, 还需进一步研究。

尽管科学技术有了很大的进步, 人们对其干扰机制有了深入的了解, 但是到目前为止还没有一个单一的技术方法可以彻底地消除对 HA 的干扰^[14]。当发现患者的临床表现和实验室数据不一致时, 医生与检验人员应进行沟通与交流, 分析原因、寻找对策, 充分认识到干扰的可能性, 运用多种检验技术, 尽可能地排除干扰, 更好地服务于临床。

参考文献

[1] 李世立. 甲状腺激素检测的实验分析前影响因素[J]. 现代医药卫生, 2017, 33(10): 1505-1507.
[2] BOLSTAD N, WARREN D J, NUSTAD K. Heterophilic antibody interference in immunometric assays[J]. Best

Pract Res Clin Endocrinol Metab, 2013, 27(5): 647-661.
[3] STURGEON C M, VILJOEN A. Analytical error and interference in immunoassay: minimizing risk[J]. Ann Clin Biochem, 2011, 48(5): 418-432.
[4] KAHAPOLA-ARACHCHIGE K M, HADLOW N, WARDROP R, et al. Age-specific TSH reference ranges have minimal impact on the diagnosis of thyroid dysfunction[J]. Clin Endocrinol (Oxf), 2012, 77(5): 773-779.
[5] MARTEL J, DESPRES N, AHNADI C E, et al. Comparative multicentrestudy of a panel of thyroid tests using different automated immunoassay platforms and specimens at high risk of antibody interference[J]. Clin Chem Lab Med, 2000, 38(8): 785-793.
[6] MONGOLU S, ARMSTON A E, MOZLEY E, et al. Heterophilic antibody interference affecting multiple hormone assays: is it due to rheumatoid factor[J]. Scand J Clin Lab Invest, 2016, 76(3): 240-242.
[7] ASTARITA G, GUTIERREZ S, KOGOVSEK N, et al. False positive in the measurement of thyroglobulin induced by rheumatoid factor[J]. Clin Chim Acta, 2015, 447: 43-46.
[8] BJERNER J, OLSEN K H, BORMER O P, et al. Human heterophilic antibodies display specificity for murine IgG subclasses[J]. Clin Biochem, 2005, 38(5): 465-472.
[9] PAPANASTASIOU L, VATALAS I A, KOUTRAS D A, et al. Thyroid autoimmunity in the current iodine environment[J]. Thyroid, 2007, 17(8): 729-739.
[10] GIOVANELLA L, KELLER F, CERIANI L, et al. Heterophile antibodies may falsely increase or decrease thyroglobulin measurement in patients with differentiated thyroid carcinoma[J]. Clin Chem Lab Med, 2009, 47(8): 952-954.
[11] CHIN K P, PIN Y C. Heterophile antibody interference with thyroid assay[J]. Intern Med, 2008, 47(23): 2033-2037.
[12] MONCHAMP T, CHOPRA I J, WAH D T, et al. Falsely elevated thyroid hormone levels due to anti-sheep antibody interference in an automated electrochemiluminescent immunoassay[J]. Thyroid, 2007, 17(3): 271-275.
[13] NAKANO K, YASUDA K, SHIBUYA H, et al. Transient human anti-mouse antibody generated with immune enhancement in a carbohydrate antigen 19-9 immunoassay after surgical resection of recurrent cancer[J]. Ann Clin Biochem, 2016, 53(6): 511-515.
[14] 蒋利君, 黎宇, 戴盛明. 异嗜性抗体对免疫测定干扰的研究进展[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2010, 2(1): 68-72.

(收稿日期: 2019-08-28 修回日期: 2019-12-05)