

• 论 著 •

血清类风湿因子对免疫比浊法测定甘胆酸的影响评估

任 鹏, 谷 春, 李建立, 刘贵建[△]

(中国中医科学院广安门医院检验科, 北京 100055)

摘要:目的 评估类风湿因子对血清甘胆酸测定的影响并探讨结果审核办法。方法 用含有高水平类风湿因子的血清分别稀释不同水平的甘胆酸血清样本,测定原始和不同稀释度的血清样本类风湿因子和甘胆酸水平,观察稀释后测定结果的变化曲线,确认干扰存在;同时平行检测抗核抗体,观察干扰情况。结果 添加类风湿因子后的血清甘胆酸测定结果下降,与类风湿因子水平呈正相关,差异有统计学意义($P < 0.05$)。类风湿因子水平在 545 IU/mL 以下时对血清甘胆酸测定基本没有影响,随着水平升高,干扰强度上升,甘胆酸检测结果急剧下降;未观察到抗核抗体干扰甘胆酸的测定。结论 血清样本中较高水平的类风湿因子会干扰甘胆酸的测定,导致血清甘胆酸水平假性降低,需要引起临床重视。结果审核时应结合血清丙氨酸氨基转移酶、天门冬氨酸氨基转移酶、总胆汁酸综合分析报告血清甘胆酸结果。

关键词:类风湿因子; 甘胆酸; 干扰; 抗原抗体反应

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2020.09.016

中图法分类号:R446

文章编号:1673-4130(2020)09-1089-04

文献标识码:A

Evaluation of the effect of serum rheumatoid factor on the determination of glycocholic acid by immunoturbidimetry

REN Peng, GU Chun, LI Jianli, LIU Guijian[△]

(Department of Clinical Laboratory, Guang'anmen Hospital, Chinese Academy of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100055, China)

Abstract: **Objective** To evaluate the effect of rheumatoid factor on the determination of serum glycocholic acid and to explore the solution for verifying the test results. **Methods** The serum samples of different levels of glycocholic acid were diluted with the serum containing high levels of rheumatoid factors. The levels of rheumatoid factors and glycocholic acid in the original and different dilutions of the serum samples were measured. The change curve of the measurement results after dilution was observed to confirm the existence of interference. At the same time, the antinuclear antibody was detected in parallel to observe the interference. **Results** After adding rheumatoid factor, the serum glycocholic acid decreased, which was positively correlated with the level of rheumatoid factor, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). When the level of rheumatoid factor was below 545 IU/mL, it had no effect on the determination of serum glycocholic acid. With the increase of the level, the interference intensity increased, and the detection result of glycocholic acid decreased sharply; no interference of antinuclear antibody was observed. **Conclusion** The higher level of rheumatoid factors in serum samples will interfere with the determination of glycocholic acid, which will lead to a false decrease of serum glycocholic acid level, which needs to be paid attention to in clinical practice. In the examination of the results, the results of serum glycocholic acid should be reported by the comprehensive analysis of serum alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase and total bile acid.

Key words: rheumatoid factor; glycocholic acid; interference; antigen antibody reaction

甘胆酸为胆酸的主要成分,可早期灵敏地反映肝胆功能的异常,是诊断肝细胞损伤和肝内胆汁淤积症的特异和灵敏的实验指标^[1-3],对肝胆疾病有诊断、鉴别诊断意义,并为肝胆疾病的预后分析提供重要依据^[4]。类风湿因子是一种自身抗体,存在于类风湿关节炎、硬皮病、肝炎等患者的血清中^[5]。在临床检验

工作中发现,在某些类风湿因子水平较高患者的血清中其他肝胆指标均正常而甘胆酸异常降低;或者肝炎患者肝功检测结果明显异常但甘胆酸检测结果却正常。此种情况下甘胆酸的异常低值是真实反映肝胆功能还是由于受到干扰而出现的假阴性结果?如何判断其真实性?在临床工作中,某些未可预知的干扰

作者简介:任鹏,男,主管技师,主要从事生化研究、分子生物学研究。 [△] 通信作者, E-mail:13651382019@163.com。

本文引用格式:任鹏,谷春,李建立,等.血清类风湿因子对免疫比浊法测定甘胆酸的影响评估[J].国际检验医学杂志,2020,41(9):1089-1092.

会对临床检测结果造成明显影响,误导医生对患者的诊断和病情判断,形成了医疗安全方面的隐患。本文拟通过在标本中添加不同水平类风湿因子,验证较高水平的类风湿因子是否会干扰血清甘胆酸的检测,导致甘胆酸检测结果假性降低,同时平行实验观察另一种自身抗体抗核抗体对甘胆酸检测的干扰情况,作一定的对比验证。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集临床检测到的含高水平类风湿因子患者的血清样本(类风湿因子>10 000 IU/mL),同时收集不同水平的甘胆酸血清样本,水平区间为 3.33~58.65 mg/L;收集高滴度抗核抗体标本,涵盖核心型、着丝点型、均质型、颗粒型和混合型,同步进行干扰试验。

1.2 仪器与试剂 类风湿因子测定:Beckman Coulter IMMAGE800 特种蛋白分析仪,Beckman Coulter 类风湿因子检测试剂盒(免疫比浊法),标准品和质控品均为 Beckman Coulter 同批次产品。血清甘胆酸测定:Beckman Coulter AU5821 全自动生化分析仪,宁

波美康公司的甘胆酸测定试剂盒(胶体金增强免疫法),标准品和质控品均为宁波美康公司同批次产品。进行实验前,仪器已按照规定进行维护和校准,各项性能指标符合要求,整个实验操作过程中,严格执行实验室制订的质量控制程序和检验操作规程,并以质控品进行常规质量控制,监控整个分析操作过程。

1.3 分组方法 选取符合条件的样本进行试验。每份样本取血清 2 mL,对照样本组和干扰物组各 1 mL,均分为 10 份,对照组分别添加 0、100 μL 生理盐水;干扰物组分别添加 0、150、322、545、789、1 915、3 300、4 200、5 500、11 400 IU/mL 类风湿因子血清 100 μL,混匀后检测血清甘胆酸水平。每个样本测定 2 次取平均值作为检测结果,除“0 添加样本”外,其余样本检测结果乘以 2。同时选取含高滴度抗核抗体的血清样本进行同样操作,观察抗核抗体对甘胆酸测定的影响。

1.4 统计学处理 应用 SPSS16.0 统计软件进行数据分析,计量资料采用配对 *t* 检验,计数资料采用 χ^2 检验,以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

表 1 不同水平类风湿因子干扰下甘胆酸检测结果(mg/L)

标本	0 IU/mL	11 400 IU/mL	5 500 IU/mL	4 200 IU/mL	3 300 IU/mL	1 915 IU/mL	789 IU/mL	545 IU/mL	322 IU/mL	150 IU/mL
标本 1	45.73	11.26	23.56	37.76	42.02	43.96	45.68	45.76	45.84	45.83
标本 2	41.47	11.26	18.20	35.06	38.78	40.26	40.44	40.20	40.40	40.40
标本 3	9.55	0.86	5.22	8.74	10.12	10.16	10.12	10.20	10.20	10.30
标本 4	13.77	1.20	5.58	10.72	12.26	13.50	13.84	13.88	13.92	13.92
标本 5	3.33	0.30	1.64	3.20	3.86	3.92	3.96	3.96	4.04	4.08
标本 6	58.65	19.40	35.00	40.02	50.62	53.68	58.58	60.40	61.20	61.40

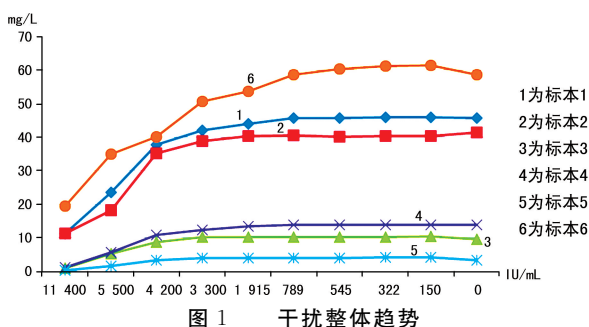


表 2 不同类型高滴度抗核抗体干扰下甘胆酸检测结果(mg/L)

原始标本	60.90	23.86	11.04	6.74	3.31
核心型	62.13	24.83	11.60	6.65	3.31
着丝点型	63.27	25.50	12.20	6.67	3.41
均质型	61.44	25.43	11.62	6.48	3.30
颗粒型	61.54	25.71	11.80	6.47	3.31
混合型	62.28	25.70	11.39	6.35	3.22

2 结果

2.1 甘胆酸处理前后的检测结果差异 经类风湿因子处理前后各样本甘胆酸检测结果见表 1。生理盐水稀释的标本前后差异无统计学意义(*P*>0.05)。类风湿因子处理前后血清甘胆酸检测结果比较:添加类风湿因子后的血清再次检测甘胆酸水平,部分结果出现明显下降。处理前后数据进行比较,11 400 IU/mL 水平干扰下,检测结果之间差异有统计学意义(*t*=10.19,*P*=0.000);5 500 IU/mL 水平干扰下,检测结果之间差异有统计学意义(*t*=7.09,*P*=0.002)。

2.2 高浓度水平 RF 的干扰差异 血清甘胆酸的下降幅度与类风湿因子的水平有关,但不成正比。类风湿因子在 4 200 IU/mL 时,甘胆酸检测结果在 10 mg/L 以上的样本偏差已经超过 15%,类风湿因子在 5 500 IU/mL 以上的所有样本,甘胆酸检测结果均超过原始检测结果 15%,原则上结果不能审核发放。见图 1。

2.3 不同水平甘胆酸抗干扰的差异 原水平越低的

甘胆酸样本,受高水平类风湿因子干扰越严重,抗干扰能力越低。类风湿因子在 5 500 IU/mL 水平时,甘胆酸小于 15 mg/L 的样本,检测结果不足实际水平的 10%;大于 40 mg/L 的样本,检测结果约为实际结果的 25%,两者之间差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2.4 低浓度水平 RF 的干扰差异 试剂说明书给出的建议是类风湿因子 < 150 IU/mL 时对甘胆酸测定无干扰。分析检测数据可发现类风湿因子水平在 545 IU/mL 时,虽然有干扰,但结果仍然可以接受;而超过 789 IU/mL 时,偏差具有统计学意义,需要临床关注。

2.5 未观察到抗核抗体对甘胆酸检测的干扰 抗核抗体平行试验并未观察到对甘胆酸检测的干扰,检测结果之间差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 2。

3 讨论

本研究结果显示,经类风湿因子处理后的血清甘胆酸检测水平均有不同程度降低,尤其是类风湿因子极高的样本,血清甘胆酸检测水平下降明显,表明血清中较高水平的类风湿因子会干扰甘胆酸的测定,导致血清甘胆酸假性降低。干扰的机制可能是因为类风湿因子结构复杂,在机体中以多种分子结构型存在,其理化性状、表位种类及数目等均可影响抗原抗体反应。人体内 IgG 分子由于某些原因常相互聚集,产生抗原多价性,这也促进了类风湿因子与 IgG 分子或抗原抗体复合物的结合。但不同试剂盒甘胆酸抗体的来源不一,其结合特异性不能保证一致,因此,不同厂家试剂盒干扰程度很可能有所差异,这有待于进一步的实验观察。此外,类风湿因子的亚型有 IGG、IGA、IGM、IGE 型,结构差异也有可能干扰程度的不同。

由于试剂研发和制备技术的发展,非特异性抗体引起的分析干扰发生率已经明显下降,但免疫测定过程中的干扰仍不可避免,需要临床和检验科保持警惕。本次实验中,针对抗核抗体,亦进行了高滴度抗核抗体对甘胆酸测定的干扰测试,结果显示核心型、着丝点型、均质型、颗粒型和混合型均未对免疫比浊法检测甘胆酸的结果产生影响。分析其原因可能是抗核抗体主要以 IgG 型居多,而类风湿因子以 IgM 型居多,故初步可以判断 IgG 型抗核抗体可能不会对甘胆酸检测造成干扰。

类风湿因子作为自身免疫性抗体,在多种疾病中都有高水平存在的案例^[6-7],尤其是严重肝损害时,类风湿因子也常常升高。临床实验室在下列情况时应考虑是否有类风湿因子干扰物的存在:患者产生类风湿因子可能性的病史或与类风湿因子产生有关的疾病;临床医生根据其他的临床检验数据怀疑肝胆功能损伤。在这种情况下实验室能通过直接测定类风湿因子的水平监测干扰物的存在,若结果正常,则可以排除类风湿因子干扰的可能;血清甘胆酸异常降低的

结果可怀疑由类风湿因子引起的甘胆酸假性降低,这类标本可先进行预稀释处理,根据研究数据显示,稀释类风湿因子水平至 545 IU/mL 以下时,类风湿因子对甘胆酸测定结果的影响基本可以忽略。检验人员审核甘胆酸结果时,可参考丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)的检测结果。一般 ALT、AST 超出检测上限 3 倍的患者,甘胆酸结果会出现一定升高;严重肝病患者总胆汁酸和甘胆酸比值(TBA/CG)常常大于 4,若临床结果不符,可初步判断甘胆酸检测受到干扰。此类标本需经过处理后重新测定,方可审核发放报告。

分析所有甘胆酸检测反应曲线,均为 X 轴 10 点处开始反应,27 点处达到最高,且曲线路径基本一致,无明显差异;所有读点结果比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),干扰并未对检测曲线造成影响。因此,单纯分析反应曲线预计无法区分判断干扰情况。

类风湿因子对免疫法检测系统的负干扰,在一些文献中被提出,但进行详细研究的报道较少。干扰机制的研究,目前主要是空间位阻(屏蔽)假说,即当类风湿因子只能与捕获或信号抗体中的某一种抗体结合时,会形成空间位阻(屏蔽),阻碍捕获抗体-抗原-信号抗体复合物的形成,造成检测信号的减弱或缺失,引起假性降低或假阴性的检测结果^[8]。

在检测前可以进行预处理尽可能降低样本中的类风湿因子水平,以便消除或降低类风湿因子对检测系统的干扰。试验中常用的样本预处理方法包括:使用阻断试管采集检测样本^[9];分析前在样本中加入动物血清或 IgG^[10]或加入封闭阻断试剂^[11];使用聚乙二醇 6000^[12]处理样本;用包被 IgG 的固体颗粒吸附^[13]等,尽管这些方法在降低类风湿因子干扰检测方面被证实是有效的,且其中一些方法也较为简单实用,但这些预处理方法已被证实并不是对所有类风湿样本都有效^[9-10,12]。价格较高的蛋白 L 沉淀^[14],由于性价比问题,基本不可能用于临床试验当中。部分文献认为可以通过添加还原剂 2-巯基乙醇降解,使用聚乙二醇沉淀法预吸收^[15],或者重组单克隆抗体 IgY 作为试剂抗体等方法降低类风湿因子的干扰作用^[16],本次试验由于条件所限,并未进行相关验证。

4 结论

综上所述,类风湿因子水平在 545 IU/mL 以下时,对甘胆酸检测结果基本无影响,当类风湿因子水平大于 545 IU/mL 时,则会干扰甘胆酸的测定,导致甘胆酸检测结果较实际血清水平低,需要引起临床重视。结果审核时应结合血清 ALT、AST、总胆汁酸综合分析报告血清甘胆酸结果。

参考文献

- [1] 郭雯佳,贾亚男,周琪,等.血清甘胆酸对肝病的诊断价值探讨[J].重庆医学,2019,48(1):140-142.

- [2] 梁运来, 谢旭林, 任煜培, 等. 甘胆酸在常见肝脏疾病中的应用[J]. 中国医师杂志, 2019, 21(3): 387-391.
- [3] 赵蓉, 石亚玲, 江笑文, 等. 血清甘胆酸检测在肝脏疾病诊断中的临床意义[J]. 检验医学与临床, 2019, 16(13): 1823-1825.
- [4] 李勃, 王汉敏. 血清甘胆酸检测在肝胆疾病诊断中的应用价值[J]. 中西医结合肝病杂志, 2018, 28(6): 364-365.
- [5] OKAZAKI S, WATANABE R. Better retention of abatacept is associated with high rheumatoid factor: a five-year follow-up study of patients with rheumatoid arthritis[J]. *Tohoku J Exp Med*, 2020, 250(3): 153-159.
- [6] 代丽怡, 巩丹丹, 赵金霞. 类风湿因子或抗环瓜氨酸化多肽抗体阳性银屑病关节炎患者的临床特点[J]. 北京大学学报(医学版), 2019, 51(6): 1008-1013.
- [7] 应佐华, 马晓峰. 类风湿因子水平在冠心病 PCI 治疗患者中的临床意义[J]. 中国临床研究, 2020, 33(1): 31-34.
- [8] XU L, WANG X, MA R, et al. False decrease of HBsAg S/CO values in serum with high-concentration rheumatoid factors[J]. *Clin Biochem*, 2013, 46(9): 799-804.
- [9] EMERSON J F, NGO G, EMERSON S S. Screening for interference in immunoassays[J]. *Clin Chem*, 2003, 49(7): 1163-1169.
- [10] KRAGSTRUP T W, VORUP-JENSEN T, DELEURAN B, et al. A simple set of validation steps identifies and removes false results in a sandwichenzyme-linked immunosorbent assay caused by anti-animal IgG antibodies in plasma from arthritis patients[J]. *Springerplus*, 2013, 2(1): 263.
- [11] DEFORGE L E, LOYET K M, DELAROSA D, et al. Evaluation of heterophilic antibody blocking agents in reducing false positive interference in immunoassays for IL-17AA, IL-17FF, and IL-17AF[J]. *J Immunol Methods*, 2010, 362(1/2): 71-81.
- [12] BARTELS E M, FALBE W I, LITTRUP A E, et al. Rheumatoid factor and its interference with cytokine measurements: problems and solutions [J]. *Arthritis*, 2011, 2011: 741071.
- [13] TODD D J, KNOWLTON N, AMATO M, et al. Erroneous augmentation of multiplex assay measurements in patients with rheumatoid arthritis due to heterophilic binding by serum rheumatoid factor[J]. *Arthritis Rheum*, 2011, 63(4): 894-903.
- [14] BARTELS E M, RIBEL-MADSEN S. Cytokine measurements and possible interference from heterophilic antibodies—problems and solutions experienced with rheumatoid factor[J]. *Methods*, 2013, 61(1): 18-22.
- [15] 陈金超, 刘涤瑕, 王丽, 等. 免疫学检测方法中的干扰与对策[J]. 现代中西医结合杂志, 2009, 18(21): 2575-2576.
- [16] TRELA M, PERERA S, SHEERAN T, et al. Citrullination facilitates cross-reactivity of rheumatoid factor with non-IgG1 Fc epitopes in rheumatoid arthritis[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 12068.

(收稿日期: 2019-09-20 修回日期: 2020-03-03)

(上接第 1088 页)

参考文献

- [1] MINUCCI A, GIARDINA B, ZUPPI C, et al. Glucose-6-phosphate dehydrogenase laboratory assay: how, when, and why[J]. *IUBMB Life*, 2009, 61(1): 27-34.
- [2] CAPPELLINI M D, FIORELLI G. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency[J]. *Lancet*, 2008, 371(9606): 64-74.
- [3] OLUSANYA B O, OSIBANJO F B, MABOGUNJE C A, et al. The burden and management of neonatal jaundice in Nigeria: a scoping review of the literature[J]. *Niger J Clin Pract*, 2016, 19(1): 1-16.
- [4] 李雅丹, 吴琳琳, 夏敏, 等. 新生儿高胆红素血症葡萄糖-6-磷酸脱氢酶基因检测及临床意义[J]. 中国妇幼保健, 2016, 31(19): 3961-3963.
- [5] 张钰, 欧明才, 胡琦, 等. 四川省新生儿 G6PD 缺乏症筛查临界值的探讨[J]. 中国妇幼健康研究, 2018, 29(3): 337-341.
- [6] 姚莉琴, 邹团标, 全星, 等. 云南省不同地区傣族儿童 G6PD 缺乏症调查[J]. 中国热带医学, 2013, 13(1): 50-52.
- [7] FU C Y, LUO S Y, LI Q F, et al. Newborn screening of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in Guangxi, China: determination of optimal cutoff value to identify heterozygous female neonates[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(8): 833-836.
- [8] 沈玉燕, 黎剑, 肖刚. 怀化市 266 408 例新生儿 G6PD 缺乏症筛查结果分析[J]. 中国优生与遗传杂志, 2017, 25(7): 86-87.
- [9] 唐芳, 黄永兰, 蒋翔, 等. 广州市葡萄糖-6-磷酸脱氢酶缺乏症的新生儿筛查及确诊评估[J]. 中华儿科杂志, 2018, 56(5): 359-363.
- [10] 中华预防医学会出生缺陷预防与控制专业委员会新生儿筛查学组. 葡萄糖-6-磷酸脱氢酶缺乏症新生儿筛查、诊断和治疗专家共识[J]. 中华儿科杂志, 2017, 55(6): 411-414.
- [11] 陆国辉, 徐湘民. 临床遗传咨询[M]. 北京: 北京大学医学出版社, 2007, 13-18.
- [12] LAOUINI N, SAHLI C A, JOUINI L A, et al. Determination of glucose-6-phosphate dehydrogenase cut-off values in a Tunisian population[J]. *Clin Chem Lab Med*, 2017, 55(8): 1193-1201.
- [13] MIAO J K, CHEN Q X, BAO L M, et al. Determination of optimal cut off value to accurately identify glucose-6-phosphatedehydrogenase-deficient heterozygous female neonates[J]. *Clin Chim Acta*, 2013, 424(23): 131-135.

(收稿日期: 2019-10-15 修回日期: 2020-02-11)