

- [J]. 安徽医学, 2016, 37(11): 1453-1456.
- [9] ARALASMAK A, AKYUZ M, OZKAYNAK C, et al. CT angiography and perfusion imaging in patients with subarachnoid hemorrhage: correlation of vasospasm to perfusion abnormality[J]. *Neuroradiology*, 2009, 51(2): 85-93.
- [10] BING Z, FAN Y L, YE X, et al. Aneurysm rebleeding after poor-grade aneurysmal subarachnoid hemorrhage: predictors and impact on clinical outcomes[J]. *J Neurol Sci*, 2016, 371(15): 62-66.
- [11] ZHOU J, AGARWAL N, HAMILTON D K, et al. The 100 most influential publications pertaining to intracranial aneurysms and aneurysmal subarachnoid hemorrhage[J]. *J Clin Neurosci*, 2017, 42(18): 28-42.
- [12] 邓小林, 周帮建, 刘代菊, 等. 数字减影 CTA 对蛛网膜下腔出血中动脉瘤的诊断价值[J]. *重庆医科大学学报*, 2016, 41(5): 516-520.
- [13] 刘高飞, 夏磊, 周霞. 多模式 CT 对蛛网膜下腔出血诊断的研究进展[J]. *中国脑血管病杂志*, 2015, 12(10): 548-551.
- [14] 吴雷, 郭华, 高子云, 等. 蛛网膜下腔出血大鼠基底动脉及血浆 eNOS、ICAM-1、TNF- $\alpha$  和 PGF $2\alpha$  的表达变化[J]. *中国老年学杂志*, 2015, 35(12): 3206-3209.
- [15] 姜华, 姜玉姬. 3 种中药复方血清对脂多糖诱导的人脐静脉内皮细胞炎症因子 LOX-1、TNF- $\alpha$ 、VCAM-1 和 ICAM-1 表达的影响[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2015, 23(10): 985-988.
- [16] 林人忻. IGF-1、sICAM-1、sVCAM-1 与动脉瘤性蛛网膜下腔出血相关性研究[D]. 武汉: 华中科技大学, 2012.
- [17] 黎涛, 尹浩. 蛛网膜下腔出血后早期脑损伤中血-脑屏障破坏的研究进展[J]. *中风与神经疾病杂志*, 2016, 33(8): 755-757.
- [18] 刘永飞, 赵贵锋. 动脉瘤蛛网膜下腔出血后脑血管痉挛药物治疗的研究进展[J]. *医学综述*, 2016, 22(13): 2607-2612.
- [19] ZHENG V Z Y, WONG G K C. Neuroinflammation responses after subarachnoid hemorrhage: a review[J]. *J Clin Neurosci*, 2017, 42(3): 7-11.
- [20] 马恒飞, 朱洁, 李灵军, 等. 脑脊液中 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Tr 细胞和 sICAM-1 与蛛网膜下腔出血相关性研究[J]. *介入放射学杂志*, 2015, 24(11): 939-942.

(收稿日期: 2020-06-16 修回日期: 2020-09-26)

• 短篇论著 •

## 某分析仪测定 TT4 水平异常升高的原因分析

齐永志, 于铭钊, 刘敏, 乐宇

解放军总医院第六医学中心检验科, 北京 100048

**摘要:**目的 分析 DXI800 全自动化学发光免疫分析仪(DXI800 分析仪)检测总甲状腺素(TT4)水平异常升高的原因, 为临床提供可靠的结果。方法 根据 DXI800 分析仪甲状腺功能检测结果将 150 例患者分为 3 组, TT4 正常组、TT4 正常升高组、TT4 异常升高组。在 I4000 全自动化学发光免疫分析仪(I4000 分析仪)上对 3 组标本的 TT4 水平进行复测。同时检测类风湿因子(RF)和碱性磷酸酶(ALP)水平。在检测标本中分别加入 ALP 抗体阻断剂(sALP, sALP 去干扰组)与磷酸盐缓冲液(PBS 组), 检测并比较 TT4 水平。结果 对 TT4 正常组、TT4 正常升高组标本进行检测, 两种分析仪检测结果差异无统计学意义( $P=0.289$ ), 具有较好的一致性( $Kappa=0.84, P<0.05$ )。对 TT4 正常组、TT4 异常升高组标本进行检测, 两种分析仪检测结果比较, 差异有统计学意义( $P=0.001$ )。各组 RF 检测结果比较, 差异无统计学意义( $P>0.05$ )。sALP 去干扰组和 PBS 组 TT4 检测结果比较, 差异有统计学意义( $t=-2.275, P=0.046$ ), 其中两份标本经 sALP 去干扰后检测结果变为正常。结论 标本中 ALP 抗体的存在可能是 DXI800 分析仪检测 TT4 水平异常升高的原因之一。

**关键词:** 化学发光法; 总甲状腺素; 碱性磷酸酶抗体阻断剂

**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2021.02.029

**中图法分类号:** R446

**文章编号:** 1673-4130(2021)02-0247-04

**文献标志码:** A

甲状腺疾病是内分泌系统的常见疾病, 近年来我国甲状腺疾病发病率明显升高<sup>[1-2]</sup>。中华医学会内分泌学分会撰写的《中国甲状腺疾病诊治指南》中对甲状腺功能实验室检查指标进行了探讨, 认为血清总甲

腺素(TT4)、总三碘甲状腺原氨酸(TT3)是反映甲状腺功能状态的最佳指标, 其中 TT4 在甲状腺功能减退的诊断中起关键作用<sup>[3]</sup>。笔者在临床工作中发现少数标本 TT4 检测结果升高, 与甲状腺功能其他指

标结果相矛盾,给临床诊断和治疗带来困难。本研究对 TT4 结果异常标本在不同的免疫分析仪上进行了比较,初步分析了干扰贝克曼 DXI800 全自动化学发光免疫分析仪(简称 DXI800 分析仪)检测 TT4 的相关因素。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取 2018 年 8 月至 2019 年 3 月解放军总医院第六医学中心门诊及住院进行甲状腺功能检测的患者 150 例。选取 TT4、TT3、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)水平正常的患者 50 例为 TT4 正常组。其中男 13 例,女 37 例;年龄 25~91 岁,平均(44.2±11.8)岁。选取 DXI800 分析仪检测 TT4 水平升高、TSH 水平降低的患者 50 例为 TT4 正常升高组。其中男 13 例,女 37 例;年龄 25~91 岁,平均(49.0±13.4)岁。选取 DXI800 分析仪检测 TT4 水平升高、TT3、FT3、FT4、TSH 水平正常的患者 50 例为 TT4 异常升高组。其中男 9 例,女 41 例,年龄 25~91 岁;平均(50.6±18.5)岁。

**1.2 仪器与试剂** DXI800 分析仪及相应配套 TT4 检测试剂盒、AU5821 全自动生化分析仪(简称 AU5821 分析仪)及相应配套类风湿因子(RF)检测试剂盒均购自美国贝克曼库尔特公司;ARCHITECT I4000 全自动化学发光免疫分析仪(简称 I4000 分析仪)及相应配套 TT4 试剂盒购自美国雅培公司。所用校准品均为厂家提供的相应配套校准品,免疫多项质控品(批号 40340)、特种蛋白多项质控品(批号 66380)均购自美国 Bio-Rad 公司。

## 1.3 方法

**1.3.1 TT4 检测** 两种化学发光免疫分析仪分别对 TT4 进行检测,将厂家试剂盒说明书提供的生物参考区间作为结果判断标准,超过参考区间上限为检测结果升高。贝克曼库尔特公司试剂盒说明书提供的 TT4 生物参考区间为 70.0~152.0 nmol/L;雅培公司试剂盒说明书提供的 TT4 生物参考区间为 62.8~151.2 nmol/L。

**1.3.2 RF 检测** 在 AU5821 分析仪上测定 3 组的 RF 水平,操作人员熟练掌握检测方法,所有操作严格按照试剂盒说明书进行,检测方法为免疫透射比浊法,超过试剂盒说明书提供的生物参考区间上限(14 IU/mL)为 RF 检测结果升高,检测线性为 10~120 IU/mL。

**1.3.3 碱性磷酸酶(ALP)检测** 选取在 DXI800 分析仪上 TT4 水平升高,I4000 分析仪上 TT4 水平正常的 16 份标本为试验组进行 ALP 水平测定,同时选

取 TT4 正常组和 TT4 正常升高组中的标本各 16 份为对照 1 组和对照 2 组,也进行 ALP 水平测定。检测仪器为 AU5821 分析仪,检测方法为速率法,以试剂盒说明书提供的生物参考区间(30~120 U/L)为结果判断标准,检测线性为 5~1 500 U/L。

**1.3.4 ALP 抗体阻断试验** 选取上述试验组中的 11 份标本进行 ALP 抗体阻断试验。ALP 抗体阻断剂(sALP)购自日本 Osaka biochemical plant 公司,水平为 5 mg/mL。进行平行试验,分成 3 组:原液组、磷酸盐缓冲液(PBS)组、sALP 去干扰组。原液组选取 300 μL 标本原液,PBS 组选取 270 μL 标本原液再加入 30 μL PBS,sALP 去干扰组选取 270 μL 标本原液再加入 30 μL sALP。室温孵育 30 min,1 000 r/min 离心 30 s,采用 DXI800 分析仪对 3 组标本 TT4 水平进行检测。

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS19.0 软件对数据进行处理、分析。计数资料以例数表示,对配对计数资料进行 McNemar 检验,非配对多组计数资料两两比较采用连续性校正  $\chi^2$  检验,当最小理论频数<5 时采用 Fisher 确切概率法。一致性检验采用 Kappa 检验,一致性强度的判断:当 Kappa<0.40,一致性较差;Kappa 为 0.40~<0.75 时,两者一致性一般;Kappa≥0.75,两者一致性较好。符合正态分布的计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,非配对计量资料多组间比较采用单因素方差分析,配对计量资料组间比较采用配对样本 *t* 检验。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 两种仪器对 TT4 正常组、TT4 正常升高组标本检测结果的比较** 对两种仪器 TT4 检测数据进行 McNemar 检验,两种检测仪器对 TT4 水平升高的判断比较,差异无统计学意义( $P = 0.289$ ),一致性检验 Kappa=0.84( $P < 0.05$ ),两种检测仪器对 TT4 水平升高的判断一致性较好。见表 1。

表 1 两种仪器检测 TT4 正常组、TT4 正常升高组标本的结果比较(*n*)

DXI800 分析仪	I4000 分析仪		合计
	正常	升高	
正常	48	2	50
升高	6	44	50
合计	54	46	100

**2.2 两种仪器对 TT4 正常组、TT4 异常升高组标本检测结果的比较** 对两种仪器 TT4 检测数据进行 McNemar 检验,两种检测仪器对 TT4 水平升高的判断差异有统计学意义( $P = 0.001$ )。见表 2。

**2.3 各组 RF 检测结果比较** TT4 正常组、TT4 正常升高组、TT4 异常升高组的 RF 检测结果比较, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表 3。

表 2 两种仪器检测 TT4 正常组、TT4 异常升高组标本的检测结果比较( $n$ )

DXI800 分析仪	I4000 分析仪		合计
	正常	升高	
正常	48	2	50
升高	16	34	50
合计	64	36	100

表 3 RF 检测结果在各组中比较( $n$ )

RF 检测结果	TT4 正常组 ( $n=50$ )	TT4 正常升高组 ( $n=50$ )	TT4 异常升高组 ( $n=50$ )
正常	48	45	44
升高	2	5	6
合计	50	50	50

**2.4 各组 ALP 水平比较** 对照 1 组、对照 2 组、试验组 ALP 水平分别为( $76.7 \pm 23.6$ )U/L、( $77.0 \pm 21.5$ )U/L 和( $78.1 \pm 27.1$ )U/L, 经单因素方差分析, 3 组 ALP 水平比较, 差异无统计学意义( $F = 0.014$ ,  $P = 0.986$ )。

**2.5 ALP 抗体阻断试验后 TT4 水平比较** sALP 去干扰组和 PBS 组 TT4 检测结果比较[( $166.89 \pm 32.17$ )nmol/L vs. ( $193.51 \pm 26.03$ )nmol/L], 差异有统计学意义( $t = -2.275$ ,  $P = 0.046$ ), PBS 组和原液组 TT4 检测结果比较[( $193.51 \pm 26.03$ )nmol/L vs. ( $185.46 \pm 32.70$ )nmol/L], 差异也有统计学意义( $t = 2.695$ ,  $P = 0.023$ )。其中 2 份标本经 sALP 去干扰后 TT4 检测结果落入生物参考区间内。

### 3 讨 论

临床实验室对 TT4 水平的检测大多采用抗原抗体反应, 但采用的指示系统不同: 放射免疫比浊法采用的是放射性同位素标记; 临床常用的化学发光法可以用发光物质直接标记, 也可采用酶类标记, 称为酶联免疫化学发光法; 而电化学发光法采用三联吡啶钌进行标记<sup>[4]</sup>。本研究中 DXI800 分析仪采用 ALP 标记 TT4, 标本中 TT4 与试剂中的鼠源性 TT4 抗体竞争性结合, 抗原抗体复合物可与包被磁微粒的捕获抗体(羊抗鼠抗体)结合, 产生的光量子值与标本内的 TT4 水平呈反比, 以此测定 TT4 水平。I4000 分析仪采用吡啶酯进行标记, 吡啶酯标记的 TT4 与标本中的 TT4 竞争结合试剂中的羊抗人 TT4 抗体, 检测抗体直接包被的磁微粒, 以此测定 TT4 水平。两种仪

器标记物的不同, 以及 DXI800 分析仪捕获抗体的加入, 均可能导致两种仪器抗干扰能力及检测结果的差异。

本研究依据 DXI800 分析仪的检测结果筛选出可能受干扰的标本, 进一步试验确定干扰因素, 试验目的并不是比较两种检测仪器抗干扰能力的差异, 试验结果也不能说明两种仪器整体抗干扰能力的优劣。现阶段 TT4 免疫定量分析缺乏统一溯源, 不同检测仪器检测结果在数值上不具有可比性, 在国家卫生健康委员会组织的室内质量评价中, TT4 化学发光定量检测也是按仪器进行分组, 这是本研究中没有应用配对样本  $t$  检验对不同检测仪器数据进行处理的原因。不同检测仪器通过相应的生物参考区间进行判读, 结果应该基本一致, TT4 正常组和 TT4 正常升高组的数据分析也表明两种检测仪器一致性较好, Kappa 值为 0.84。50 例 DXI800 分析仪检测 TT4 水平升高标本中, 有 16 例在 I4000 分析仪上检测正常, 两种检测仪器对 TT4 水平升高的判断结果差异较大, 说明两种检测仪器的抗干扰能力可能不同。

RF 对抗原抗体反应产生干扰的报道较多, 对酶联免疫吸附法和化学发光法均可产生干扰, 主要原理是 RF 可以与检测抗体(动物来源)的 Fc 段结合, 干扰抗体与检测物的结合<sup>[5-6]</sup>。本研究中 RF 水平检测采用免疫透射比浊法, 检测线性为 10~120 IU/mL, 当检测结果 <10 IU/mL 时超出了检测线性范围, 而 RF 生物参考区间为 0~14 IU/mL, 在 RF 检测结果正常的标本中, 大部分结果 <10 IU/mL, 所以数据按照计数资料进行分析。本研究对 TT4 正常组、TT4 正常升高组、TT4 异常升高组进行 RF 水平检测, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ ), 说明 RF 不是 TT4 结果异常升高的主要原因。

从检测原理分析, DXI800 分析仪标记物是 ALP, 如果标本 ALP 水平过高, 可能干扰试验, 但对 I4000 分析仪不产生干扰。当 DXI800 分析仪检测方法为双抗体夹心法时, 检测信号值与检测物水平呈正比, 标本中的 ALP 可造成检测信号升高, 使检测结果出现假阳性。多项研究表明, 内源性 ALP 可造成肌钙蛋白 I、人绒毛膜促性腺激素假阳性<sup>[7-9]</sup>。当 DXI800 分析仪 TT4 检测采用免疫竞争法时, 检测信号值与检测物水平呈反比, 如果标本中存在高水平的 ALP 会造成 TT4 检测结果降低, 而不是比真实水平升高, 在 DXI800 分析仪采用免疫竞争法检测睾酮的研究中发现, 患者服用合成的 ALP 治疗后会造睾酮检测值降低<sup>[10]</sup>。本研究中对照 1 组、对照 2 组、试验组 ALP 水平检测结果比较, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ ), 说

明 TT4 异常升高组标本中 ALP 水平没有明显升高, 在本研究中 ALP 不是造成 TT4 检测结果异常升高的原因。

有研究表明, 人体内存在 ALP 抗体会造成雌二醇检测结果偏高, 加入 sALP 后, 检测结果明显降低<sup>[11]</sup>。该研究也在被测标本中加入不同水平的 ALP 抗体, 证明 ALP 抗体的存在对 DXI800 分析仪造成干扰, 但不同水平、不同种类的 ALP 抗体可能会使雌二醇检测结果偏高或偏低<sup>[11]</sup>。对于免疫竞争法检测 TT4, 一方面 ALP 抗体可结合到 T4-ALP 复合物上, 影响酶结合物催化底物发光, 另一方面 ALP 抗体与 T4-ALP 结合后, 可能阻止 T4-ALP 复合物与抗 T4 抗体的结合。两种机制均可造成信号值降低, 最终使 TT4 检测结果异常升高。sALP 中含有灭活的 ALP, 可与标本中的 ALP 抗体结合, 消除干扰。本研究中采用 sALP 去干扰后, TT4 水平降低, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 同时两份标本经 sALP 去干扰后结果变为正常, 说明 ALP 抗体的存在对部分标本 TT4 的检测有干扰, 可能影响到临床的诊断和治疗。

此外, 若患者体内存在人抗鼠抗体, 可以和捕获抗体(羊抗鼠抗体)竞争结合鼠源性检测抗体, 可导致抗原抗体复合物不能被捕获抗体捕获, 光量子值降低, 最终 TT4 检测值升高。含有鼠免疫球蛋白的阻断剂可以特异性地去除人抗鼠抗体的干扰, 但考虑到多余的阻断剂可与捕获抗体结合, 难以去除, 所以本研究并未进行异嗜性抗体阻断试验, 后续研究可进一步对标本中人抗鼠抗体进行直接检测, 以证明异嗜性抗体干扰的存在。

综上所述, 标本中 ALP 抗体的存在可能是 DXI800 分析仪检测 TT4 水平异常升高的原因之一, 采用不同检测仪器复查, 同时结合患者临床症状分析, 可有效减少不同干扰因素引起的异常结果。

## 参考文献

[1] 侯振江, 张靖宇, 牟兆新, 等. 水源性高碘地区健康人群甲状腺自身抗体阳性筛查分析[J]. 中国免疫学杂志, 2017, 33(3): 401-406.

- [2] 董芬, 张彪, 单广良. 中国甲状腺癌的流行现状和影响因素[J]. 中国癌症杂志, 2016, 26(1): 47-52.
- [3] 中华医学会内分泌学分会《中国甲状腺疾病诊治指南》编写组. 中国甲状腺疾病诊治指南: 甲状腺疾病的实验室及辅助检查[J]. 中华内科学杂志, 2007, 46(8): 697-702.
- [4] 王会中, 徐蓉. 定量免疫分析技术的应用现状与展望[J]. 中华检验医学杂志, 2017, 40(6): 478-480.
- [5] 胡慧琼, 刘斌, 王红, 等. 类风湿因子对酶联免疫吸附试验和电化学发光免疫分析检测甲型肝炎 IgM 的影响探讨[J]. 国际检验医学杂志, 2016, 37(3): 380-382.
- [6] 梅方超, 尚小玲, 戴海英, 等. 类风湿因子 IgM 对化学发光法检测 HIV 抗体结果的影响[J]. 实用检验医师杂志, 2018, 10(3): 143-144.
- [7] MARINHEIRO R, AMADOR P, PARREIRA L, et al. False positive troponin i rendering two admissions for "recurrent acute myopericarditis" [J]. Open Cardiovasc Med J, 2018, 12(1): 55-58.
- [8] HERMAN D S, RANJITKAR P, YAMAGUCHI D, et al. Endogenous alkaline phosphatase interference in cardiac troponin I and other sensitive chemiluminescence immunoassays that use alkaline phosphatase activity for signal amplification[J]. Clin Biochem, 2016, 49(15): 1118-1121.
- [9] WILGEN U, PRETORIUS C J, GOULD M J, et al. Cardiac troponin I carryover by very high patient samples still causes false-positive results on the Beckman Coulter AccuTnI+3[J]. Ann Clin Biochem, 2016, 53(Pt 1): 177-179.
- [10] SOFRONESCUS A G, ROSS M, RUSH E, et al. Spurious testosterone laboratory results in a patient taking synthetic alkaline phosphatase (asfotase alfa) [J]. Clin Biochem, 2018, 58(1): 118-121.
- [11] MAHARJAN A S, WYNESS S P, RAY J A, et al. Detection and characterization of estradiol (E2) and unconjugated estriol (uE3) immunoassay interference due to anti-bovine alkaline phosphatase (ALP) antibodies[J]. Pract Lab Med, 2019, 17(1): e00131.

(收稿日期: 2020-05-02 修回日期: 2020-08-10)