

• 个案分析 •

1 例 M 蛋白干扰电化学发光检测的处理与分析*

汪 玲¹, 李慧明², 张 庆¹, 叶斌华¹, 张 青^{1△}

南昌大学第一附属医院: 1. 核医学科; 2. 检验科, 江西南昌 330006

关键词: 多发性骨髓瘤; M 蛋白; 电化学发光; 维生素 B₁₂; 干扰**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2023.10.026**中图分类号:** R446.6; R733.3**文章编号:** 1673-4130(2023)10-1277-03**文献标志码:** C

多发性骨髓瘤(MM)是一种以单克隆浆细胞恶性增殖伴单克隆免疫球蛋白大量分泌为特征的恶性浆细胞病,产生的 M 蛋白沉积可引起患者骨质破坏、肾功能损害、感染、贫血、高黏滞综合征等多种非特异的复杂临床表现。M 蛋白具有独特均一的物理特性,且多无免疫功能,但可在特定条件下干扰实验室检测。近年来关于 M 蛋白干扰常规生化免疫检测的报道屡见不鲜^[1-2],涉及比色法及浊度法等多种生化免疫分析方法,亦有 M 蛋白在化学发光免疫检测中产生干扰的案例^[3]。M 蛋白根据免疫球蛋白的类型可分为 IgG、IgM、IgA、IgE、IgD,以及轻链型、双克隆型和分泌型。产生检测干扰的免疫球蛋白以 IgG 和 IgM 为主,IgA 型 M 蛋白虽在临床发病率较高,但发生检测干扰的现象十分罕见。本文报道了本院近期发现的 1 例 IgA 型 M 蛋白干扰维生素 B₁₂(VB₁₂)电化学发光检测的个案及消除干扰的方法。

1 资料与方法

1.1 临床资料 患者,男,49 岁,双眼视力无痛性下降 10 d,加重 6 d 伴乏力,拟以“糖尿病性视网膜病变(双)”收入本院眼科治疗。既往发现有糖尿病史 10 余年,口服格列美脲,1 片/次,1 次/天。查体示神清,精神差,自主体位,中度贫血貌;鼻腔牙龈有出血;全身浅表淋巴结未触及肿大。多层螺旋 CT 扫描显示双侧多根肋骨骨质破坏并软组织肿块,多个胸椎体及附件、左侧肩胛骨内斑片状低密度影,考虑恶性病变。实验室检查血常规示:白细胞计数(WBC)2.89×10⁹/L,红细胞计数(RBC)1.69×10¹²/L,血小板计数(PLT)93×10⁹/L,血红蛋白(Hb)53 g/L,平均红细胞体积(MCV)107.1 fL,平均红细胞血红蛋白含量(MCH)31.4 pg,平均红细胞血红蛋白浓度(MCHC)293 g/L;生化指标:总蛋白(TP)138.9 g/L,清蛋白(ALB)25.0 g/L,球蛋白(GLB)113.9 g/L,ALB/GLB 0.22,肌酐(CR)111.1 μmol/L,尿酸(UA)475.7 μmol/L;免疫球蛋白+补体:IgG 5.20 g/L,IgA 88.40 g/L,IgM 0.17 g/L;贫血三项检测:铁蛋白 619.70 μg/L,叶酸 12.05 ng/mL,VB₁₂ 不能检测,仪器报警“标本有凝块”;血清蛋白电泳:γ 球蛋白

70.7%;免疫固定电泳:IgA,κ 泳道发现异常条带,分型为 IgAκ 型;游离轻链检测:游离 κ 轻链>183.00 mg/L;轻链 κ 9 740.00 mg/dL;骨髓瘤免疫分型可见 31.43%异常克隆性浆细胞;骨髓细胞形态学考虑 MM 骨髓象。临床主要诊断为 MM(IgAκ 型)。

1.2 方法

1.2.1 标本处理 使用分离胶真空采血管采集患者肘部静脉 5 mL,室温放置待血液完全凝固后 3 000 r/min 离心 5 min,收集血清,血清铁蛋白、叶酸和 VB₁₂ 检测均采用罗氏 Cobas e602 全自动免疫分析仪(电化学发光法),检测试剂均采用原装配套试剂。

1.2.2 确认干扰 VB₁₂ 检测原因 VB₁₂ 检测时仪器报警“标本有凝块”结合该患者血液样本试管存在分离胶不翻转上浮的现象,考虑以下原因:(1)样本量太少;(2)真空管分离胶质量问题;(3)离心机的转速不够导致血清未完全析出;(4)患者标本中存在异常的血液成分。为探究干扰原因,统计近 3 天分离胶不翻转的标本例数,加大样本离心转速至分离胶上浮,分离出血清后再进行检测。

1.2.3 消除干扰的方法 稀释法:根据罗氏 VB₁₂ 试剂说明书建议的稀释基质,分别采用罗氏 DU 稀释液和已知低值血清(VB₁₂<50 pg/mL)对患者血清进行倍比稀释(1:2、1:4、1:8、1:16、1:32),并比较两种稀释方式所换算的 VB₁₂ 检测值。聚乙二醇 PEG6000 蛋白沉淀法:将 250 g/L PEG6000 与患者血清等比例混合,涡旋 30 s,室温下静置 15 min,以 10 000×g 离心 5 min,取上清液检测 VB₁₂,同时选取 5 份非免疫球蛋白增高的患者标本作为对照,计算此方法的样本回收率。

1.3 统计学处理 数据处理采用 SPSS22.0 统计分析软件,采用配对 *t* 检验比较两种基质稀释后的检测结果,以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 近 3 天分离胶不翻转标本统计 统计核医学科近 3 天 5 028 例患者血液标本发现分离胶不上浮标本 3 例,只占总例数的 0.06%。

2.2 加大离心机转速至分离胶上浮后的检测结

* 基金项目:江西省教育厅科学技术研究重点项目(GJJ210135);江西省卫生健康委员会科技计划项目(202130329)。

△ 通信作者,E-mail:hhh3357@sina.com。

果 将离心机转速由 3 000 r/min 提高至 4 200 r/min(离心时间 5 min)时,试管分离胶上浮,析出足量清亮、透明血清,无肉眼可见凝块;将样本再次上机检测,VB₁₂ 仍不能检测,仪器报警提示“标本有凝块”。

2.3 两种基质稀释的 VB₁₂ 检测结果比较 采用罗氏 DU 稀释液和已知低值血清(VB₁₂ < 50 pg/mL)两种基质倍比稀释后,所换算的 VB₁₂ 检测结果差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 两种基质稀释的 VB₁₂ 检测结果比较 (pg/mL)

稀释方式	原液	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32
DU 稀释液	—	2 865.4	1 804.0	941.6	979.2	<检测下限
低值血清	—	2 271.2	1 182.8	956.8	910.4	<检测下限

注:—表示仪器报警提示“标本有凝块”。

2.4 PEG6000 蛋白沉淀法结果及回收率 蛋白沉淀法 VB₁₂ 检测换算值(检测值×2)为 918.2 pg/mL,5 份对照患者标本的回收率分别为 94.3%、103.5%、93.5%、92.2%和 91.2%,见表 2。样本回收率高,提示该方法处理样本所得测定值可靠。

表 2 PEG6000 蛋白沉淀法 VB₁₂ 检测结果及对照标本回收率

标本	VB ₁₂ 原检测值 (pg/mL)	VB ₁₂ 沉淀法 换算值 (pg/mL)	标本回收率 (%)
患者血清	—	918.2	N/A
对照 1	517.3	488.0	94.3
对照 2	796.0	824.2	103.5
对照 3	186.4	174.2	93.5
对照 4	1 174.0	1 082.5	92.2
对照 5	331.2	302.1	91.2

注:—表示仪器报警提示“标本有凝块”;N/A 表示不适用。

3 讨 论

VB₁₂ 也称钴胺素,是一种水溶性的有机金属化合物,人体不能合成,其主要来源于肉蛋奶及鱼类制品。人体胃肠道对 VB₁₂ 的吸收取决于胃壁细胞合成的内因子。贫血是 MM 患者的常见症状,血清 VB₁₂ 缺乏在 MM 贫血患者中普遍存在^[4],故检测 MM 患者的血清 VB₁₂ 水平十分重要。

患者标本 VB₁₂ 检测时仪器报警提示“标本有凝块”,结合分离胶采血管血液分离异常,分离胶未上浮的现象,笔者统计近 3 天核医学科患者标本分离胶未上浮比例仅为 0.06%,初步排除离心机的转速不够的推测,若为分离胶质量问题,会出现此批次大量分离胶不上浮的情况,排除分离胶质量问题;加大标本离心转速后分离胶上浮,血清析出,但 VB₁₂ 仍未检出,提示患者血液标本可能存在异常血液成分使血清密度增加。

MM 产生的大量 M 蛋白会引起血清蛋白质成分的变化,进而导致血清密度增加^[5]。多中心临床研究发现,MM 患者大多存在分离胶位置改变的血液分离

不良现象,此现象可提示 MM 的诊断^[6]。该患者血液中存在大量 IgA 型 M 蛋白,易形成二聚体为主的多聚体,以聚合物形式存在的 M 蛋白可使患者出现黏滞血症,干扰检测吸样^[7];罗氏 Cobas e602 标本针吸取样本为压力感应,吸样时阻力超出阈值即引起仪器报警,此阻力大小与样本的吸样量有关,因此只造成了 VB₁₂ 检测报警。

根据文献报道,采用稀释法和聚乙二醇 PEG6000 蛋白沉淀法对样本进行处理以消除 M 蛋白对检测的干扰^[8]。为最大限度地降低“基质效应”引起的 VB₁₂ 检测误差,采用罗氏 DU 稀释液和已知低值血清分别进行稀释检测,结果表明两种基质的检测结果无明显差异,但两种基质的倍比稀释结果呈现非线性,笔者暂无法判断此结果是“基质效应”的影响还是血清中高浓度 M 蛋白对 VB₁₂ 检测的内源性干扰。蛋白沉淀法对照标本蛋白沉淀法的回收率为 91.2%~103.5%,回收率高,该方法处理样本后的测定值可靠;以蛋白沉淀法检测结果为参照,比较倍比稀释结果,笔者发现低稀释倍数时 VB₁₂ 检测结果异常增高,但随着稀释倍数增加其检测值与蛋白沉淀法结果一致,无明显“基质效应”,该患者血清 IgA 的质量浓度为 8.84 g/dL,远高于 VB₁₂ 试剂说明中抗 IgA 干扰上限 1.6 g/dL,推测稀释法检测结果不成线性的主要原因是:低稀释倍数时,高浓度的 M 蛋白会干扰 VB₁₂ 检测。

VB₁₂ 检测采用竞争法的原理,使用 VB₁₂ 特异性内因子,样本中的 VB₁₂ 与加入的生物素标记的 VB₁₂ 竞争标记的内因子复合物上的结合位点。有案例曾报道,IgGκ 型 M 蛋白对 VB₁₂ 增强化学发光检测法的干扰作用,高水平的 M 蛋白可与内因子非特异性结合^[9],M 蛋白可占据内因子上的结合位点,孵育时内因子上能够与生物素标记的 VB₁₂ 结合的空位减少,导致发光信号降低,使得检测结果假性增高。

综上所述,本案例中 IgAκ 型的 M 蛋白不仅干扰 VB₁₂ 的检测吸样,同时造成稀释后的 VB₁₂ 检测结果假性增高;低倍数的稀释法难以消除 M 蛋白干扰,测定结果不可靠,随着稀释倍数增加,M 蛋白的干扰作用会减弱。但稀释法的效果取决于稀释倍数和取样准确性,也需要考虑稀释介质的基质效应,不能一概否定此方法。因此,日常检测工作中要重视 M 蛋白对免疫检测的干扰作用,当检测出现异常或结果与临床征象不相符时,要与临床医生及时沟通,避免发出错误结果。

参考文献

[1] 徐云云,胡安群. M 蛋白在重氮法与钒酸氧化法检测胆红素中的影响初探[J]. 临床输血与检验,2018,20(2):174-177.
 [2] 史晓洁,侯艳峰,陈亮,等. IgM-κ 型 M 蛋白对全血 CRP 的检测干扰及分析[J]. 检验医学与临床,2021,18(12):1817-1819.

- [3] IMPERIALI M, JELMINI P, FERRARO B, et al. Interference in thyroid-stimulating hormone determination[J]. Eur J Clin Invest, 2010, 40:756-758.
- [4] SEGOBIN K, MAHARAJ S, NELSON G, et al. Rapid onset of B₁₂ deficiency in the setting of worsening multiple myeloma: correlations between B₁₂ deficiency and multiple myeloma[J]. Case Rep Oncol Med, 2017, 2017: 6458676.
- [5] 褚娜利, 张靖宇, 郭丽, 等. 血液不同分离结果的多发性骨髓瘤患者 IL-6、IL-10、TNF- α 、 β_2 -MG 表达水平及临床意义[J]. 中国实验血液学杂志, 2020, 28(5):1625-1630.
- [6] 张靖宇, 范洪, 张静, 等. 不同血液分离结果的多发性骨髓瘤患者临床特征及预后分析[J]. 中国实验血液学杂志, 2020, 28(2):547-552.
- [7] KING R I, FLORKOWSKI C M. How paraproteins can affect laboratory assays: spurious results and biological effects[J]. Pathology, 2010, 42(5):397-401.
- [8] CHAKRABORTY S, SEN S, GUPTA D. Spurious hyperphosphatemia in a case of multiple myeloma[J]. Ind J Clin Biochem, 2014, 29(2):250-252.
- [9] PANT V, TUMBAPO A, YADAV B K. Vitamin B₁₂ immunoassay interference in a patient with multiple myeloma-troubleshooting in a two step reagent kit based on enhanced chemiluminescence testing[J]. EJIFCC, 2018, 29(2):152-155.

(收稿日期:2022-10-13 修回日期:2023-02-16)

• 个案分析 •

PD-1 抑制剂导致免疫性胰腺炎所致暴发性 1 型糖尿病案例报道

崔丽丽^{1,2}, 李贵星^{1 Δ}

1. 四川大学华西医院实验医学科, 四川成都 610041; 2. 贵州中医药大学第二附属医院检验科, 贵州贵阳 550002

关键词: PD-1 抑制剂; 免疫性胰腺炎; 暴发性 1 型糖尿病; 血糖; C 肽**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2023.10.027**中图分类号:** R576; R587.1**文章编号:** 1673-4130(2023)10-1279-02**文献标志码:** C

随着免疫检查点抑制剂(ICI)在实体肿瘤治疗中的广泛应用,相关不良反应也逐渐增多,但由于其不良反应较为少见,容易被临床医生忽视。本文报道的 1 例 PD-1 抑制剂导致免疫性胰腺炎所致的暴发性 1 型糖尿病(F-T1DM)案例,为检验人员于工作中发现检验结果的异常,经过思考分析,以及及时与临床医生沟通,明确了疾病的诊断,帮助患者及时得到精准的治疗的案例。笔者希望该报道能够加强临床医生对于 ICI 少见不良反应的关注,从而避免严重并发症的发生。

1 临床资料

患者,男,59 岁,因“口干、乏力 4 个月,血糖波动大 1 个月”于 2022 年 3 月 30 日收入四川大学华西医院(以下简称本院)内分泌科。患者 2016 年曾诊断为腹膜上皮样间皮瘤,于 2020 年 6 月在外院行“腹腔镜下大网膜切除术+肝肿物切除术+腹腔肿物切除术+腹腔肿物灭活术+腹腔热灌注置管术”,随后接受 6 次化疗(培美曲塞+顺铂)和 11 次免疫治疗(信迪利单抗,具体用量不详)。4 个多月前(2021 年 11 月),患者出现“口干、口苦、乏力,体重下降 2.5 kg,伴声音嘶哑、言语不清,伴恶性呕吐数次,呕吐物为胃内容物,无喷射状,无头晕、头痛,无腹泻、腹痛”,就诊于当地医院,检查结果如下:(1)初诊血糖 > 38.9 mmol/L,血酮 6.5 mmol/L;(2)血气分析示 pH 值为 7.192,乳酸(Lac) 3.26 mmol/L,碱剩余(BE) -20

mmol/L, HCO₃⁻ 8.3 mmol/L,提示酸中毒;(3)糖化血红蛋白(HbA1c) 8.4%,口服葡萄糖耐量试验(OGTT 试验)及 C 肽释放试验示空腹血糖 20.08 mmol/L(参考范围:3.9~5.9 mmol/L),餐后 1 h 血糖 28.9 mmol/L,餐后 2 h 血糖 33.5 mmol/L,空腹 C 肽 0.24 mmol/L(参考范围:0.8~4.2 mmol/L),餐后 1 h C 肽 0.22 mmol/L,餐后 2 h C 肽 0.24 mmol/L;(4)糖尿病相关抗体(酪氨酸磷酸酶抗体、谷氨酸脱羧酶抗体、胰岛素自身抗体、抗胰岛细胞抗体)检测均为阴性。随后患者出现昏迷,考虑“1 型糖尿病酮症酸中毒昏迷”,给予补液、纠正酸中毒、控制血糖等对症治疗,血糖控制稳定后出院,出院后给予“门冬胰岛素 10 U、8 U 及 8 U 三餐前皮下注射+德谷胰岛素 8 U 每晚皮下注射”,空腹血糖控制在 6~7 mmol/L,将餐后血糖控制在 8~10 mmol/L。1 个多月前,患者自测血糖较高,空腹血糖波动在 18 mmol/L,餐后血糖波动在 22 mmol/L,2 d 前行动态血糖监测,血糖仍控制不佳,餐后血糖波动在 25 mmol/L,为进一步诊治收入本院。

患者既往无家族史及遗传病史。查体:体温 36.2℃,呼吸 20 次/分,心率 90 次/分,血压 103/85 mmHg,身高 172 cm,体重 49 kg,神志清楚,体形消瘦,查体合作。实验室及影像学检查:血糖 18.65 mmol/L,尿糖(+++),HbA1c 8.3%,C 肽 < 0.007 nmol/L,余未见异常。腹部彩超示:胰腺形态大小正

 Δ 通信作者, E-mail: liguixing67@163.com。