

1 例多发性骨髓瘤患者叶酸检测结果异常的干扰因素分析

王依凡 张明芳 赵楠楠 孙国威

作者单位: 150000 黑龙江哈尔滨, 黑龙江迪安医学检验所有限公司(王依凡、赵楠楠、孙国威)

150000 黑龙江哈尔滨, 罗氏诊断产品(上海)有限公司(张明芳)

通信作者: 张明芳, Email: zhmf1979@126.com

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2021.01.018

【摘要】 目的 报告 1 例多发性骨髓瘤(MM)患者血液样本在检测叶酸(FOL)过程中出现的结果异常现象, 并分析导致 FOL 结果异常的干扰因素。**方法** 2020 年 9 月 15 日接收该患者血液样本, 使用电化学发光分析仪和全自动生化分析仪检测贫血 8 项[包括维生素 B₁₂(VB₁₂)、FOL、铁蛋白(Fer)、转铁蛋白(TRF)、铁离子(Fe)、不饱和铁结合力(UIBC)、血清转铁蛋白饱和度(TS)、总铁结合力(TIBC)]。**结果** 患者女性, 72 岁。检测结果 FOL > 20.00 μg/L, 高于 FOL 的仪器检测范围, 因此依照标准操作程序(SOP)对样本进行 1:1 稀释, 再次上机检测, 经换算后 FOL 结果为 9.16 μg/L, 与原倍样本明显不一致。经与临床沟通, 该患者已被诊断为 MM, 重新上机检测, 结果总蛋白(TP) > 121.9 g/L, 白蛋白(ALB)为 25.2 g/L。分析出现异常结果的原因, MM 患者血液样本含大量单克隆免疫球蛋白(Ig), 也称 M 蛋白, 在实验室检测过程中会增加血液黏滞性, 形成蛋白胶, 干扰检验过程, 从而导致 FOL 结果假性增高。针对此项干扰因素使用样本稀释法处理, 样本稀释时其中的蛋白成分也被稀释, 使得样本黏滞性降低, 反应得以正常进行。**结论** 临床实验室在样本检测过程中有时会存在结果受到干扰的情况, 只有排除干扰因素, 才能得到可信的结果, 从而为临床诊断及治疗提供可靠的依据。

【关键词】 结果异常; 干扰因素; 叶酸; 免疫球蛋白; 多发性骨髓瘤

Analysis of interference factors caused by a case of abnormal folic acid test results in a patient with multiple myeloma

Wang Yifan, Zhang Mingfang, Zhao Nannan, Sun Guowei. Heilongjiang Dean Medical Laboratory Co., Ltd., Harbin 150000, Heilongjiang, China (Wang YF, Zhao NN, Sun GW); Roche Diagnostics (Shanghai) Co., Ltd., Harbin 150000, Heilongjiang, China (Zhang MF)

Corresponding author: Zhang Mingfang, Email: zhmf1979@126.com

【Abstract】 Objective To report the blood sample testing process of one case of multiple myeloma (MM) with abnormal folic acid (FOL) test results, and analyze the interference factors. **Methods** On September 15, 2020, the blood sample of the patient was received, and eight items of anemia [including vitamin B₁₂ (VB₁₂), FOL, ferritin (Fer), transferrin (TRF), iron ion (Fe), unsaturated iron binding capacity (UIBC), serum transferrin saturation (TS) and total iron binding capacity (TIBC)] were detected by electrochemiluminescence analyzer and automatic biochemical analyzer. **Results** The patient was 72-year-old female. The detection results showed that FOL > 20.00 μg/L, which was higher than the instrument detection range of FOL. According to standard operating procedure (SOP), the sample was diluted by 1:1 and tested again. After conversion, the result of FOL was 9.16 μg/L, which was obviously inconsistent with the original sample. After communicating with the clinic, the patient was diagnosed as MM, the total protein (TP) was detected as 121.9 g/L, and the albumin (ALB) was 25.2 g/L. The reason of abnormal results was analyzed. The blood samples of MM patients contained a large number of monoclonal immunoglobulin (Ig), also known as M protein. In the process of laboratory testing, it would increase blood viscosity, form protein glue, and interfere with the testing process, resulting in false increase of FOL results. For this interference factor, the sample dilution method was used, and when the sample was diluted, the protein component was also diluted, the viscosity was reduced, and the reaction proceeded normally. **Conclusions** The detection results may be disturbed when the samples are detected in the clinical laboratory. A credible result can be obtained only after the interference factors were eliminated. The clinical laboratory can provide a reliable basis for clinical diagnosis and treatment.

【Key words】 Abnormal results; Interference factors; Folic acid; Immunoglobulin; Multiple myeloma

在临床实验室内,检验医师面对的往往是一个个独立样本,而每个样本指向的又是一个个正在等待诊断或治疗的患者,在临床检验工作中经常会出现与结果相关的各类问题,一个样本的检验结果准确与否,不仅要依靠检验医师的正确操作,也考验了操作者的责任心。此外,准确可靠的检验结果也是实验室与临床科室之间有效沟通、协同合作的结果,只有实验室与临床医生和患者紧密联系、密切沟通,才能对一些疑难病例做出合理的诊断,给予正确的治疗。本文报告 1 例 FOL 检验结果异常的多发性骨髓瘤(multiple myeloma, MM)患者的血液样本检测过程,并分析产生异常结果的干扰因素,通过实验室与临床有效沟通,对结果进行合理解释和处理。

1 病例资料

患者女性,72 岁,于 2020 年 9 月 15 日送检血液样本检测贫血 8 项,包括维生素 B₁₂、叶酸(folic acid, FOL)、转铁蛋白(transferrin, TRF)、铁蛋白(ferritin, Fer)、不饱和铁结合力(unsaturated iron binding capacity, UIBC)、铁离子(iron ion, Fe)、血清转铁蛋白饱和度(transferrin saturation, TS)和总铁结合力(total iron binding capacity, TIBC)。上机检测完成后结果显示 FOL>20 μg/L,超出仪器的检测范围,因此依照标准操作程序(standard operating procedure, SOP)对样本进行 1:1 稀释,再次上机检测,结果为 4.58 μg/L,经换算后得到的 FOL 浓度为 9.16 μg/L,与原倍样本结果明显不一致,因此重新稀释,再次检测原倍样本与稀释样本,以确认排除操作失误导致的差异,结果分别为>20.00 μg/L 和 4.68 μg/L。此时分析在检测过程中可能存在干扰因素,遂与临床沟通,并对结果进行合理解释。

与临床医生沟通了解患者的诊断治疗情况,得知该患者已经被诊断为 MM,正在接受治疗。重新将样本上机检测总蛋白(total protein, TP)和白蛋白(albumin, ALB),结果 TP>121.9 g/L, ALB 为 25.2 g/L。对上述结果进行推断,分析 FOL 结果的真实性,最后发出报告。该患者贫血 8 项检测结果见表 1。

表 1 1 例多发性骨髓瘤(MM)患者贫血 8 项检测结果

项目	数值	参考区间	项目	数值	参考区间
Fer(μg/L)	172.1	13.0~150.0	Fe(μmol/L)	17.8	7.8~32.2
VB ₁₂ (ng/L)	890.9	211.0~946.0	UIBC(μmol/L)	18.7	25.0~50.1
FOL(μg/L)	9.16	3.89~26.00	TIBC(μmol/L)	36.5	54.0~77.0
TRF(g/L)	1.66	2.00~3.60	TS(%)	49.0	20.0~55.0

注: Fer 为铁蛋白, VB₁₂ 为维生素 B₁₂, FOL 为叶酸, TRF 为转铁蛋白, Fe 为血清铁离子, UIBC 为不饱和铁结合力, TIBC 为总铁结合力, TS 为血清转铁蛋白饱和度

2 检测方法

使用罗氏 cobas e601 电化学发光分析仪和罗氏 cobas c501 全自动生化分析仪(罗氏诊断产品有限公司)对样本进行检测,所用试剂耗材均为原装配套产品。试验当日室内质量控制(质控)结果均在控。

3 案例分析和讨论

3.1 MM 的临床特征 MM 是一种浆细胞单克隆恶性增殖性疾病,其特点是血液中异常单克隆免疫球蛋白(immunoglobulin, Ig)分泌增多^[1],这些异常升高的单克隆 Ig 是由浆细胞或 B 淋巴细胞恶性增殖所产生,在电泳过程中可见较窄的单株峰(M 峰),因此又被称为 M 蛋白。该类蛋白没有正常的免疫功能^[2],不仅可以在人体血液循环过程中增加血液黏滞性,而且当血液离体后,在实验室检测过程中也会造成干扰。有时表现为仪器加样针吸样异常,有时表现为某些项目的检测结果异常,在不知情的情况下,如果实验室接到该类样本,往往会产生异常结果,影响临床诊断和后续治疗。

3.2 产生异常结果的原因分析 对于本文病例,实验室与临床科室沟通后,对异常结果有了清晰的认识,同时也产生了进一步的思考。从 FOL 项目的检测原理上分析,第 1 个步骤孵育是将 25 μL 血液样本与 FOL 预处理试剂 1(美司钠 40 g/L, pH 值 5.5)和预处理试剂 2(氢氧化钠 25 g/L)一起孵育,结合的 FOL 会从内源性 FOL 结合蛋白上释出。另外在试剂说明书中有明确说明,TP 浓度极高的样本(如华氏巨球蛋白血症患者血液样本)可能在分析杯中形成蛋白胶,而不适用于本测定方法。

由于 MM 患者的血液样本中含有大量的 Ig,因此在预处理过程中,试剂中的成分可能会改变蛋白质的亲水性,导致高浓度蛋白质变性,从而形成蛋白胶。有研究证实,MM 患者的血液样本反应过程中会出现胶冻样反应混合液,这种胶冻样的反应混合液在预清洗过程中会阻止微小的磁珠(磁微粒)被磁铁吸附,因此磁微粒与反应复合物会一同被清洗掉。由于 FOL 检测采用的是竞争抑制法,反应复

合物减少会导致最后的发光信号值减少,从而造成结果的假性升高。当对样本进行稀释时,样本内的蛋白质成分也被稀释,黏滞性降低,因此反应能够正常进行。但在 TP 浓度未知的情况下,送检样本往

往会被正常检测,所以测定结果的可靠性需要进一步确认。

3.3 检测结果的影响因素 MM 的常见症状是贫血,其发生概率较高,可达 80%,而且患者的贫血程度与疾病进程密切相关^[3]。贫血是由于红细胞寿命缩短所致,多为正细胞正色素性贫血,少数呈小细胞低色素性贫血,因此贫血相关项目是 MM 诊断所需的临床检测项目。除此之外,高钙血症、骨折、感染和肾功不全也是 MM 的常见症状和并发症^[4-5]。这些症状与并发症常会影响 MM 患者的血液检测,导致某些项目结果异常,不能真正反映实际病情,往往会误导 MM 的诊断和治疗。

实验室检测结果的可靠性主要依赖于良好的质控,质控包括分析前、分析中和分析后质控,其中分析前质控起主要作用,不仅包括样本的采集和储存,也包括患者的准备。有些检测项目结果与患者的生理状态相关^[6],年龄、性别、饮食、睡眠、运动、妊娠、精神因素、动物接触史、疫苗或 Ig 注射,服用药物或保健品都可能影响检测结果。另外,有些特殊疾病(如肿瘤、自身免疫性疾病等)也会导致检测结果的异常,试剂说明书对较常见的影响因素都会有所提及,如高蛋白血症,高浓度的类风湿因子(rheumatoid factor, RF)等。实际工作中,送检样本可能不会检测蛋白或 RF 等项目,因此项目受影响时不易分辨,此时更需要检验医师加以辨别,必要时应与临床医生沟通,了解患者更多信息。

3.4 影响因素的处理方法 实际工作中去除干扰的方式较多,如稀释、聚乙二醇(polyethylene glycol, PEG)沉淀、抗体阻断、中和、过滤、改变溶液 pH 值、更换检测方法等。但也需注意,对相同的影响因素使用同样的处理方式也有可能无效^[7-8],因此只有根据结果尝试多种方式,才能最终选择正确的方法,真正消除影响因素。

本文通过稀释的方式降低 TP 的浓度,减弱了 M 蛋白形成凝胶的基质环境。在去除干扰因素的实验过程中,稀释方法最方便且成本最低。此外 PEG 沉淀法也简便易行,是实验室常用的去干扰方法^[9]。当机体发生免疫性疾病或 Ig 增多时,可以采用 PEG 沉淀法,如在类风湿关节炎、系统性红斑狼疮等疾病检测中,某些结果可能会受体内 Ig 的干扰,需要进行去除。

除此之外需要注意的是,在一部分无症状人群

中,当检测结果与临床表现不一致时,检测结果的准确性会受到临床医生或患者的质疑,这时,不仅需要实验室分析可能存在的干扰因素,回顾整个质控过程,也需要与临床进行有效沟通,确认受检者的状态,包括就诊原因、采样前的准备(如饮食、运动、休息状况、是否熬夜、精神压力大等)、服用药物或保健品情况等,上述因素均会对某些检测项目产生明显的影响,患者日常情况改变后,检测结果会发生明显变化。有研究显示,在分析前的影响因素中,受检患者的自身生理因素占较高的比例,其次是样本采集的因素^[6]。

综上所述,一个可靠的检验结果来源于对检测全程的严格质控,不仅限于实验室的分析过程中,也应包括实验室难以接触到的实验前环节。对本文案例反过来分析,MM 患者血液中含有高浓度的球蛋白,这可能导致很多检测项目的结果异常,若实验室能够了解到样本来自于 MM 患者,会对该样本采用特殊的处理方式,避免干扰,为临床发送可靠性更高的报告单,从而为临床医生对患者的诊断与治疗提供可靠依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- 1 白志瑶,包艳,戴宏斌,等.高免疫球蛋白血症多发性骨髓瘤临床与实验室综合分析[J].实用检验医师杂志,2019,11(4):227-230. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2019.04.011.
- 2 张黎明,刘道利,李秋明,等.1例血清球蛋白升高对多发性骨髓瘤的早期预警分析[J].实用检验医师杂志,2020,12(4):254-256. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2020.04.019.
- 3 李娟.浆细胞病[M]//黄从新.内科学.北京:高等教育出版社,2011:779-785.
- 4 白志瑶,尹春琼,包艳,等.高免疫球蛋白血症型多发性骨髓瘤与轻链型多发性骨髓瘤临床及实验室指标综合分析[J].实用检验医师杂志,2020,12(2):90-94. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2020.02.008.
- 5 袁颖,熊小敏,郑立.多发性骨髓瘤 119 例临床分析[J].华西医学,2006,21(1):120-121. DOI: 10.3969/j.issn.1002-0179.2006.01.079.
- 6 杨琳媛,杨薪正,闫晋晋.分析前各因素对临床生化检验结果的影响[J].智慧健康,2020,6(3):13-14. DOI: 10.19335/j.cnki.2096-1219.2020.3.007.
- 7 何静,王治伟,胡远明. IgM 型 M 蛋白干扰对临床生化检测的影响[J].中国医药指南,2013,11(15):432-433,437. DOI: 10.3969/j.issn.1671-8194.2013.15.329.
- 8 沈敏娜,吴炯,郭玮,等. M 蛋白干扰对血清样本常规生化检测项目的影响[J].检验医学,2011,26(11):730-735. DOI: 10.3969/j.issn.1673-8640.2011.11.004.
- 9 孙国威,赵楠楠,张明芳,等.中青年人分泌乳素检测鉴别巨泌乳素的意义探讨[J].实用检验医师杂志,2020,12(2):110-113. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2020.02.013.

(收稿日期:2020-11-25)

(本文编辑:邵文)