

· 案例分析 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2023.04.035

1 例体检者 CA19-9 水平假性异常升高的处理及分析*

李文文, 孙鹏鹏, 戚浩田, 李向东, 孙涛[△]

山东第一医科大学第一附属医院/山东千佛山医院检验科, 山东济南 250014

关键词: 糖类抗原 19-9; 单克隆抗体; 特异性; 异嗜性抗体

中图分类号: R573.32

文献标志码: C

文章编号: 1672-9455(2023)04-0574-03

糖类抗原(CA)19-9 是消化系统肿瘤标志物之一,健康人的消化系统如胰腺、胆管等部位会分泌少量的 CA19-9^[1]。患胰腺癌、肝癌、胃癌及结直肠癌等各种消化系统恶性肿瘤患者血清中会分泌大量的 CA19-9^[2]。虽然尚无资料支持 CA19-9 检测可用于恶性肿瘤的筛查,但是其在消化道肿瘤的诊断、治疗、疾病进展监测、预后判断方面还是有较大应用价值^[3]。因此,保证 CA19-9 检测结果的准确性和一致性非常重要。目前,CA19-9 常用的检测方法为电化学发光免疫分析法,该法具有灵敏度高和特异度高的特点,且通量大,适合大样本量的检测。目前,临床上常用的有罗氏、雅培、西门子、贝克曼等全自动化学发光仪,其基本原理还是基于抗原与抗体的反应。在抗体与抗原反应过程中会受到内源性干扰物质的影响,从而导致临床结果出现假性结果,这些干扰物质包括类风湿因子(RF)、人抗动物抗体(HAAA)、异嗜性抗体等,导致临床做出错误的诊断和治疗。本研究以 1 例查体过程中 CA19-9 水平异常升高的患者为研究对象,分析 CA19-9 水平异常升高的原因及采取的处理措施,现将处理过程报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 1 例 32 岁的女性于 2020 年 5 月在本院体检中心进行体检。查体结果:双肺呼吸音清晰,未闻及干、湿啰音。心前区无隆起及凹陷,心界无扩大,心率 60 次/分,节律规整,各瓣膜听诊区未闻及病理性杂音。腹部平坦,腹软,全腹无压痛,无反跳痛。肝、脾肋下未触及,Murphy's 征阴性,肝肾区无叩痛。双下肢无水肿,双下肢足背动脉搏动正常。辅助检查:乳腺、甲状腺、腹部超声,胸部 X 线片等未见明显异常。腹部平扫 CT:右肾囊肿表现,其他未见异常。血液检查:血常规、凝血指标、乙肝 5 项、肝功能指标检测均未见异常,胃泌素释放肽前体为 100.13 pg/mL。第 1 次 CA19-9 检测结果 >1 200 U/mL,1:10 稀释后的检测结果为 2 007.34 U/mL,审核人员发现该患者标本检测结果与临床症状不相符。推

测该患者体内存在干扰物质,从而造成 CA19-9 假性升高,为此针对有可能出现的干扰物质进行确认试验。

1.2 方法

1.2.1 梯度试验 在 A 检测平台上采用配套稀释液进行倍比稀释,梯度为 1:2、1:4、1:8、1:16、1:32、1:64、1:128、1:256,将稀释后的结果与理论值做线性回归, $R^2 > 0.975$ 、斜率在 1.0 ± 0.1 为具有线性关系,反之则不具有线性关系。

1.2.2 异嗜性抗体阻断剂(HBR)处理标本 选用 SCANTIBODIES 公司的异嗜性抗阻断试剂(HBT)管分装标本进行 HBT 处理,严格按照说明书操作,处理后标本置于 A 检测平台检测 CA19-9。偏差(%) = (阻断后结果 - 原始结果) / 原始结果 × 100%,偏差 < ±25% 判断为二者没有差异(选用 CA19-9 允许总误差 ±25% 作为判断标准)。

1.2.3 排除其他干扰物 选用西门子 BNP 特定蛋白分析仪检测免疫球蛋白(Ig)、RF、抗链球菌素“O”(ASO);选用欧蒙医学诊断(中国)有限公司提供的试剂盒(间接免疫荧光法)进行抗核抗体(ANA)检测。

1.2.4 更换检测平台 第 1 种:采用 A 检测平台全自动化学发光分析仪检测 CA19-9,检测方法为双抗体夹心法。第 2 种:采用 B 检测平台全自动电化学发光分析仪检测 CA19-9,检测方法为双抗体夹心法;第 3 种:采用 C 检测平台全自动化学发光分析仪检测 CA19-9,检测方法为二步夹心法。偏差(%) = (更换检测平台结果 - 原始结果) / 原始结果 × 100%。偏差 < ±25% 判断为二者没有差异(选用 CA19-9 允许总误差 ±25% 作为判断标准)。

1.3 统计学处理 采用 Microsoft Excel 2016 软件对数据进行分析。

2 结果

2.1 梯度试验结果 线性回归的 $R^2 = 0.9998 > 0.975$, $K = 0.9893$,显示梯度稀释后标本结果与理论值存在线性关系。见图 1。

* 基金项目:山东省医药卫生科技发展计划项目(2015WS0216)。

[△] 通信作者, E-mail: st_1975@163.com。

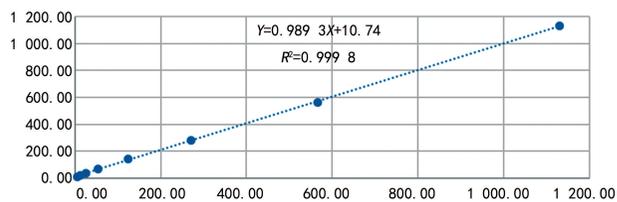


图 1 CA19-9 梯度试验结果

2.2 血清经 HBR 阻断处理后 CA19-9 水平与原始结果的比较 血清经 HBR 阻断处理后 CA19-9 水平为 150.72 U/mL, 原始结果为 2 007.34 U/mL, 偏差为 -92.5%, 正常参考区间为 0~37 U/mL。

2.3 干扰物质检测结果 IgG、RF、ASO、ANA 结果见表 1。

表 1 IgG、RF、ASO、ANA 检测结果

干扰物质	结果	正常参考区间
IgG	12.9 g/L	7~16 g/L
RF	17.6 IU/mL	0~15 IU/mL
ASO	67.8 IU/mL	0~408 IU/mL
ANA	阴性	阴性

2.4 多种检测平台 CA19-9 水平与原始结果的比较 3 种检测平台检测 CA19-9 水平比较见表 2。

表 2 3 种检测平台检测 CA19-9 结果比较

检测平台	原始结果 (U/mL)	新测结果 (U/mL)	偏差 (%)	正常参考区间 (U/mL)
A 检测平台	2 007.34	1 908.32	-4.93	0~37
B 检测平台	2 007.34	5.80	-99.71	0~39
C 检测平台	2 007.34	6.90	-99.66	0~27

3 讨 论

CA19-9 在组织中以单唾液酸神经节苷脂形式存在, 在血液中则以富含糖链的高分子量糖蛋白存在, 属于黏液蛋白标志物家族中的一员^[4]。在 1979 年由 KOPROWSKI 等^[5]最早提出, 通过人结肠腺癌细胞株获取单克隆抗体(编号: 1116-NS19-9), 通过该抗体与肿瘤相关的 CA 反应, 与之对应的抗原为 CA19-9。

目前, CA19-9 是广泛应用于肿瘤早期诊断、疗效观察及预后判断中的指标, 特别是在消化道肿瘤的应用中更广泛。检测结果的准确性直接影响到临床的诊断和治疗, 不同的检测结果会指导临床选择不同的治疗方案, 因此, 保证实验室检测结果的准确性非常有必要。影响检测结果的因素主要包括人、机、料、法、环, 检测方法是影响检测结果的重要因素之一。目前, CA19-9 的常用检测方法为电化学发光免疫分析法, 其核心还是形成抗原-抗体结合物, 其特异度还是与相结合抗体的特性密切相关, 同时也受到标本中抗原及其基质、试剂成分和检测方法的影响。本案例

是 1 例体检者, 其 CA19-9 水平异常升高与查体的临床症状和体征严重不相符, 推测该患者体内存在干扰物质, 从而造成 CA19-9 水平假性升高, 为此针对有可能出现的干扰物质进行确认试验。首先进行了梯度试验, 对倍比稀释后的检测结果与理论值进行线性回归分析, 其结果存在线性关系 ($R^2 = 0.999 8$ 、 $K = 0.989 3$)。虽然, 梯度试验结果呈线性关系, 但是该患者的临床症状和体征不支持该结果。梯度试验也只能确认 60% 的干扰物质引起假性反应, 其余 40% 无法通过梯度试验来确认^[6]。因此, 推测该患者存在其他干扰物质, 同时 IgG、RF、ASO 及 ANA 等检测结果均为阴性, 排除了以上临床常见干扰物质。为了证明干扰物质的存在, 本研究通过更换新的检测平台和 HBT 进行求证, 结果与原始结果具有明显的差异, 偏差为 -92.5%。表明该患者的检测结果受异嗜性抗体的严重干扰。

异嗜性抗体属内源性抗体, 是由已知或未知的抗原物质刺激人体所产生的一类能与多个物种的 Ig 发生相对弱结合的多重特异性 Ig^[7]。根据其来源不同分为天然抗体和自身抗体两种, 其中天然抗体占绝大部分, 主要来源包括污染后的食物、饲养动物、近期接受过免疫疗法、接种各种疫苗等^[8-9], 另外密切接触宠物或实验小鼠是最常见原因。有研究表明, 3%~15% 的健康人体内有异嗜性抗体的存在^[10], 其对基于抗原-抗体结果为基础的电化学发光免疫分析法有一定的干扰, 造成检测结果的假性升高或降低。尽管在临床上异嗜性抗体干扰检测结果的概率仅为 0.05%~0.50%^[11], 但其造成的后果非常严重。目前, 异嗜性抗体干扰机制可能是异嗜性抗体与检测试剂抗体的 Fc 表位或 Fab 区域中的决定簇结合, 干扰夹心法和竞争法的免疫检测^[12]。异嗜性抗体对免疫学检测项目干扰较多, 但出现的频率十分低, 如对皮质醇、胰岛素样生长因子、前列腺特异性抗原(PSA)、肌钙蛋白等都存在干扰^[13-16]。

目前, 大多数试剂盒说明书对各自检验方法局限性进行了说明, 但也未能彻底消除异嗜性抗体的干扰。克服此类干扰的处理方法除了文中 HBT 外, 还有蛋白 G 法、PEG 法、热和酸处理法^[17], 这几种方法各有其优缺点, 消除效果取决于免疫分析原理及标本中异嗜性抗体的来源及成分。本研究中患者 CA19-9 水平超过参考区间数倍, 临床医师会考虑患者是否为肿瘤患者或为肿瘤的高危人群。不同的结果会有截然不同的治疗方案, 因此, 对于异常检验结果应提高警惕。当有以下情况发生时, 应考虑是否有异嗜性抗体的干扰: (1) 检测结果与临床体征、症状不相符; (2) 检测的多项指标中只有 1 项结果异常升高, 其他未见异常; (3) 经梯度倍比稀释后检测结果与理论值之间

不呈线性关系;(4)更换检测系统,两种系统结果的偏差 $> \pm 25\%$;(5)使用 HBR 处理后检测结果与原始结果的偏差 $> \pm 25\%$;(6)患者近期有免疫单克隆抗体治疗史、疫苗接种史、输血史或饲养动物史等。

本病例检测使用的 3 种检测平台均采用双抗体夹心法,以单克隆抗体 1116-NS-19-9 为基础,此抗体与血液中抗原上表达的糖类决定簇进行反应,所用的捕获抗体和标记抗体均为小鼠单克隆抗体。尽管 3 种检测方法使用抗体、方法学、单克隆抗体类型一致,但不同品牌试剂所使用的抗体结合位点不尽相同,同一种异嗜性抗体对不同检测试剂中各种抗体组合的反应可能会有所不同,因此,可能该异嗜性抗体只干扰 A 检测平台,而未干扰 B 检测平台和 C 检测平台。此外,本案例提示梯度试验并不能完全排除干扰物质,还是需要进行其他确认试验加以证实。经过 HBT 后患者 CA19-9 检测水平为 150.72 U/mL,仍高于正常参考区间 3 倍以上,在临床上还是有一定参考意义。表明该患者体内还是存在一定的 CA19-9 抗原,而且该患者胃泌素释放肽前体的结果还是高于正常参考区间的数倍。不排除患者是肿瘤的高危人群,建议该患者定期做肿瘤标志物检测、B 超检查及 CT 检查,做到早期发现、早期预防。

不同的检测平台试剂包被的抗原或抗体反应位点不一致,最终会导致检测结果有一定差异。A 检测平台灵敏度高于 B 和 C 检测平台,假阳性率高于其他检测平台,因此,在日常工作中还需要检验科人员及时识别出来,并与临床、患者沟通,以免给临床提供不准确的检测结果而误导临床做出错误的判断,进而给患者造成不必要的心理压力。检验科人员可以通过梯度试验、检测 Ig 等常见干扰物质、HBT 等方法对本进行鉴别,以期给予临床和患者一个较为满意和合理的答案。

参考文献

[1] 何小芹,刘晓丹. 肿瘤标志物 CA19-9 假性升高 1 例[J]. 国际检验医学杂志,2016,37(4):575.

[2] BERGQUIST J R, IVANICS T, STORLIE C B, et al. Implications of CA19-9 elevation for survival, staging, and treatment sequencing in intrahepatic cholangiocarcinoma: a national cohort analysis[J]. *J Su Oncol*, 2016, 114(4): 475-482.

[3] CHARATCHAROENWITTHAYA P, ENDERS F B, HALLING K C, et al. Utility of serum tumor markers, imaging, and biliary cytology for detecting cholangiocarcinoma in primary sclerosing cholangitis[J]. *Hepatology*, 2008, 48(4): 1106-1117.

[4] SALVATORE S, PATRIZIA B, ROBERTO S. CA19-9: biochemical and clinical aspects[J]. *Adv Exp Med Biol*,

2015, 867: 247-260.

- [5] KOPROWSKI H, STEPLEWSKI Z, MITCHELL K, et al. Colorectal carcinoma antigens detected by hybridoma antibodies[J]. *Somatic Cell Genet*, 1979, 5(6): 957-971.
- [6] ISMAIL A A. Identifying and reducing potentially wrong immunoassay results even when plausible and "not-unreasonable"[J]. *Adv Clin Chem*, 2014, 66: 241-294.
- [7] JAHAGIRDAR V R, STROUHAL P, HOLDER G, et al. Thyrotoxicosis factitia masquerading as recurrent Graves' disease: endogenous antibody immunoassay interference, a pitfall for the unwary[J]. *Ann Clin Biochem*, 2008, 45(3): 325-327.
- [8] LEVINSON S S, MILLER J J. Towards a better understanding of heterophile (and the like) antibody interference with modern immunoassays[J]. *Clin Chim Acta*, 2002, 325(1/2): 1-15.
- [9] MONAGHAN P J, LEONARD M B, NEITHERCUT W D, et al. False positive carbohydrate antigen 19-9 (CA19-9) results due to a low-molecular weight interference in an apparently healthy male[J]. *Clin Chim Acta*, 2009, 406(1/2): 41-44.
- [10] OLSEN T G, HUBERT P R, NYCUM L R. Falsely elevated human chorionic gonadotropin leading to unnecessary therapy[J]. *Obstet Gynecol*, 2001, 98(5): 843-845.
- [11] PARK A, EDWARDS M, DONALDSON M, et al. Lesson of the week: interfering antibodies affecting immunoassays in woman with pet rabbits[J]. *BMJ*, 2003, 326(7388): 541-542.
- [12] MANJUNATH L, YELURU A, RODRIGUEZ F, et al. 27-year-old man with a positive troponin: a case report[J]. *Cardio Ther*, 2018, 7(2): 197-204.
- [13] BARONI S, TROIANI E, SANTONOCITO C, et al. A false positive case of high-sensitivity cardiac troponin in a patient with acute chest pain: analytical study of the interference[J]. *Clin Biochem*, 2019, 66: 103-105.
- [14] OKYAY K, YILDIRIR A. The preanalytical and analytical factors responsible for false-positive cardiac troponins[J]. *Anatol J Cardiol*, 2015, 15(3): 264-265.
- [15] 伊然, 刘晓民, 詹晓蓉. 异嗜性抗体对甲状腺功能测定干扰作用的研究[J]. 国际免疫学杂志, 2011, 34(4): 304-310.
- [16] PEDROSA W, TEIXEIRA L. Interference of heterophilic antibodies with free prostate-specific antigen in the Beckman-Coulter (Unicel DxI) assay, inverting the free/total prostate-specific antigen ratio[J]. *Ann Clin Biochem*, 2009, 46(Pt 4): 344-345.
- [17] 谭诗, 宋涛, 殷欢, 等. 人抗小鼠抗体干扰化学发光法检测[J]. 临床检验杂志, 2018, 36(7): 539-541.