

免疫检测中的干扰

选译自《The Immunoassay Handbook (Fourth Edition)》

翻译：武汉原谷生物科技有限责任公司

免疫检测试验是现代临床实验室中一种重要的高敏检测技术，但它们的致命弱点是它们易受干扰。在病人的样本中存在干扰物质会导致错误的测试结果，无论是假阳性或假阴性。这个测试错误可能在临床上很重要，并会导致对病人的误诊和灾难性后果。对免疫检测试验中的干扰问题早已有大量综述性文章(Boscato *et al.*, 1989; Boscato and Stuart, 1986, 1988; Braunstein, 2002; Diamandis, 2004; Ismail and Barth, 2001; Ismail *et al.*, 2002b; Itoh and Yamaguchi, 1995; Jones, 2002; Kohse and Wisser, 1990; Kricka, 1999, 2000; Kricka *et al.*, 1990; Kroll and Elin, 1994; Levinson, 1992; Tate and Ward, 2004; Van Kroonenburgh and Pauwels, 1988; Weber *et al.*, 1990)。在这里，我们概述了免疫检测分析中干扰的类型，解决因其存在于生物体液中干扰分析物的方法，和临床重要的案例。免疫分析干扰是一个长期存在的问题，可追溯到1900s早期的血清学测试(Page and Heimoff, 1946; Seelman, 1918)。正如一位作者在书信中描述用 Wassermann 法检测梅毒所述，(Seelman, 1918):

“在死亡和税收之外，只有一件事让我更加确信，那就是如果通过所描述的方法对我的血液进行测试，得到了一个阳性结果，我不会接受这是最终的诊断结果，而是继续用另一种更准确和更可靠的方法进行测试。”

在二十世纪70年代早期的报告中描述了在用免疫检测方法分析乙肝表面抗原的试验中出现循环抗体导致的假阳性结果(Hollinger, 1972; Prince *et al.*, 1973)。该文章发表近40年后，免疫分析的干扰仍然是一个问题，但对抗措施已经变得更加成熟，实验人员和普通大众对此的意识已显着增加。许多类型的干扰因素是复杂的，不同方法，不同测试，不同病人都可能导致不同的效应，而所有这些因素导致这个关键问题难以解决。

免疫检测干扰的范围

下表总结了免疫检测中干扰的主要来源。

抗待检物抗体	抗动物抗体（牛、山羊、马、小鼠、猪、兔、绵羊、大鼠等）	自身抗体
血液替代品	携带污染	采血管
污染物	造影剂	补体

药物	药物代谢物	交叉反应
纤维蛋白	溶血	草药治疗
异嗜性抗体	高剂量钩状效应	人抗动物抗体
显影剂	免疫复合物	样品量不足
脂血	微小的血凝块	病变蛋白
RF	样品储存	样品基质
部分填充的采血管		

表 1：免疫检测中的干扰源

干扰可能来源于实验的预分析和分析阶段，下面各部分将对这些进行简要描述。

循环抗体

抗动物抗体

抗动物抗体可能在双抗夹心法中导致假阳性或少数情况下的假阴性干扰。抗动物抗体桥连动物源捕获抗体和检测抗体就会导致假阳性结果，如图 1B 所示，检测结果无法将这种情况与特定抗原桥连捕获抗体与检测抗体的结果区分开来。假阴性干扰被认为是由于抗动物抗体分别结合到捕获抗体或检测抗体上，使待测物无法桥连捕获抗体和检测抗体（三明治的形成被抑制）（如图 1C）。

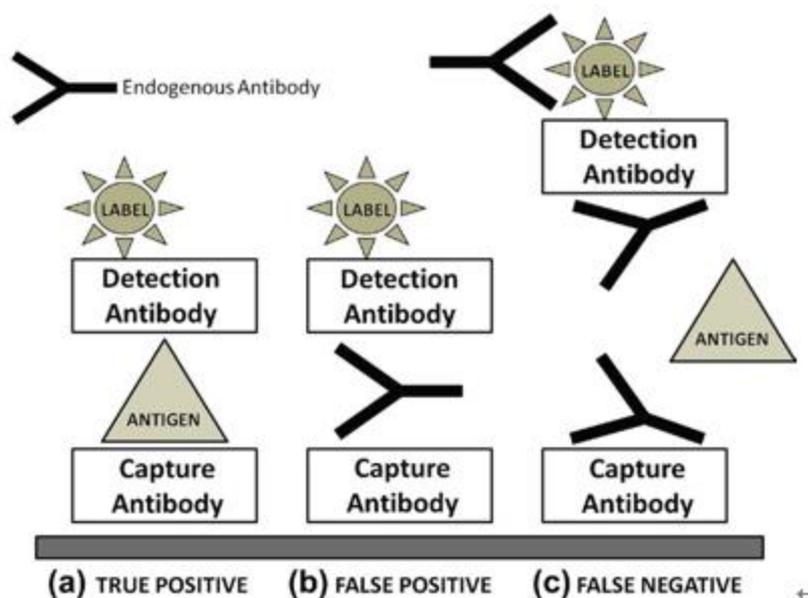


图 1

动物源	制剂
鸡	透明质酸
牛	胰岛素
马	抗胸腺细胞球蛋白, 结合雌激 (普雷马林)
马来响尾蛇	安克洛酶
小鼠	治疗性单抗和显像剂
猪	VIII 因子, 胰岛素, 肝素
大鼠	治疗性单抗
鲑鱼	降钙素
绵羊	地高辛特异性抗体

表 2 动物源药物或实验药物制剂

循环抗动物抗体通常是由于免疫系统对 "外来" 蛋白抗原 (如小鼠单克隆 IgG) 的正常免疫反应而产生的。越来越多的治疗和诊断药物制剂是从动物来源或使用可与蛋白分离和共纯化的固定化单克隆小鼠抗体进行亲和纯化的, 如此便带来了免疫学上的问题 (Smid and van der Meer, 1995)。一些非常规疗法, 如补药也含有抗原性动物蛋白, 如 "antireticulocytotoxic" (来自注射人骨髓和脾脏匀浆的家兔冻干血清) (Schaison *et al.*, 1981)。传染病疫苗接种 (Schaison *et al.*, 1981; Arnold *et al.*, 1994; Padova *et al.*, 1991) 和输血 (Hawkins *et al.*, 1980) 是其他两种动物蛋白抗原可能触发抗体形成的途径。事实上, 有些疫苗有鸡胚或蛋培养物或兔血清的残余蛋白 (Schaison *et al.*, 1981; Padova *et al.*, 1991); 虽然, 流感疫苗在假阳性病毒抗体结果中的作用已经受到质疑 (Simonsen *et al.*, 1995)。表 2 和 3 列出了基于动物或重组蛋白的诊断和药物制剂的例子 (Elbakri *et al.*, 2010)。也有导致抗动物抗体产生的非医源性的原因, 包括饲养宠物 (Berglund and Holmberg, 1989), 通过胎盘转移到未出生的孩子 (Czernichow *et al.*, 1981; Larsson *et al.*, 1981), 畜牧业, 饮食抗原跨肠道转移 (Falchuk and Isselbacher, 1976; Jewell and Truelove, 1972)。

Antibody (Brand Name) ⁺	Treatment Indication (Target) ⁺
Murine antibodies (suffix—<i>omab</i>)⁺	
Ibritumomab tiuxetan (Zevalin) ⁺	Non-Hodgkin lymphoma (CD20) ⁺
Muromonab-CD3 Receptor) ⁺	Transplant rejection (T cell CD3 (Orthoclone OKT3)) ⁺
Tositumomab (Bexxar)	Non-Hodgkin lymphoma (CD20) ⁺
Chimeric Mouse/human (suffixes—<i>ximab</i>)⁺	
Abciximab (ReoPro)	Cardiovascular disease (glycoprotein IIb/IIIa) ⁺
Cetuximab (Erbix)	Colorectal cancer, head and neck cancer (epidermal growth factor receptor) ⁺
Infliximab (Remicade)	Autoimmune disorders (TNF- α signaling) ⁺
Rituximab (Rituxan)	Non-Hodgkin lymphoma (CD20) Mabthera) ⁺
Basiliximab (Simulect)	Transplant rejection (CD25) ⁺
Humanized antibodies from mouse (suffix—<i>zumab</i>)⁺	
Bevacizumab (Avastin)	Colorectal cancer, age-related macular degeneration (vascular endothelial growth factor) ⁺
Certolizumab pegol	Crohn's disease (TNF- α signaling) (Cimzia) ⁺
Daclizumab (Zenapax)	Transplant rejection ⁺
Eculizumab (Soliris)	Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (C5) ⁺
Efalizumab (Raptiva)	Psoriasis (CD11a) ⁺
Gemtuzumab (Mylotarg)	Acute myelogenous leukemia (CD33) ⁺
Natalizumab (Tysabri)	Multiple sclerosis and Crohn's disease (alpha-4 integrin) ⁺
Omalizumab (Xolair)	Mainly allergy-related asthma (IgE)
Palivizumab (Synagis)	Respiratory syncytial virus (RSV F protein) ⁺
Trastuzumab (Herceptin)	Breast cancer ⁺
Ranibizumab (Lucentis)	Macular degeneration (vascular endothelial growth factor A) ⁺
Humanized antibodies from rat⁺	
Alemtuzumab (Campath)	Chronic lymphocytic leukemia (CD52) Rat-murine hybrid ⁺
Ertumaxomab (Rexomun)	Breast cancers (CD3E) ⁺

表 3: 治疗性单克隆抗体

HAMA 是一种棘手的抗体，因此是很多研究的焦点。多项研究已经探究了 HAMA 或常见干扰抗体的普遍性，评估结果变化很大。一项研究报告了基于非免疫鼠血清处理后明显的将 CK-MB 值（1008 份血清供体中的范围为 10-1000ug/L）降至 3 ug/L 以下，而测定出约 9% 的存在率 (Thompson *et al.*, 1986)。另一项研究显示了用四种免疫检测实验（促甲状腺激素 (TSH)、前列腺特异抗原 (PSA)、 β -人绒毛膜促性腺素 (β -hCG) 和皮质醇) 中评估 40 份样本中的干扰抗体 (Emerson *et al.*, 2003)。三种不同的干扰评估方法表明了：在竞争法测试（皮质醇）中 7.5 - 16.2% 的测试样本存在干扰抗体，在双抗夹心法中存在抗体干扰的被测

样本则占 0-83.6%。然而，不到 11% 的测试干扰是具有临床意义的（导致结果在参考值范围之内和之外的变动）。基于异嗜性阻断试剂（HBR）标准，只有 2.9% 的测试有干扰。基于血清稀释标准，只有 10.8% 的测试有干扰。一项涉及 TSH 和促性腺激素测试的大型研究发现，5310 例患者中有 28 人的样本有明显的干扰 (Ismail *et al.*, 2002a)。另一项广泛的调查审查了在 10 国家的 66 个实验室对 10 个供体的样本中 74 种待测物的试验结果，发现这 3445 结果中的 8.7% 是由于干扰造成的假阳性 (Marks, 2002)。

Interference Test [Ⓢ]	ICON [Ⓢ]	HBR Pretreatment [Ⓢ]	Serial Dilutions [Ⓢ]
Definition of interference [Ⓢ]	Positive color reaction on negative control zone [Ⓢ]	Significant discrepancy between result on a 1:1 dilution before and after HBR treatment [Ⓢ]	Significant discrepancy between result on a 1:1 dilution and any other dilution [Ⓢ]
Competitive immunoassay Test[Ⓢ]	% Positive[Ⓢ]	% Positive[Ⓢ]	% Positive[Ⓢ]
Cortisol (polyclonal goat anti-rabbit capture and polyclonal rabbit conjugate) [Ⓢ]	7.5% [Ⓢ]	11.1% [Ⓢ]	16.2% [Ⓢ]
Sandwich immunoassay Test[Ⓢ]	% Positive[Ⓢ]	% Positive[Ⓢ]	% Positive[Ⓢ]
TSH (polyclonal goat anti-mouse: monoclonal mouse capture and polyclonal goat conjugate) [Ⓢ]	5% [Ⓢ]	55.6% [Ⓢ]	38.2% [Ⓢ]
PSA (monoclonal mouse capture and monoclonal mouse conjugate) [Ⓢ]	0% [Ⓢ]	17.5% [Ⓢ]	55% [Ⓢ]
β-hCG (polyclonal goat anti-mouse: monoclonal mouse capture and polyclonal rabbit conjugate) [Ⓢ]	0% [Ⓢ]	73% [Ⓢ]	83.8% [Ⓢ]

表 4：用 3 种方法屏蔽免疫测量干扰

人类抗动物抗体反应可以分为不同的类 (IgG, IgA, IgM, 或很少的 IgE) (Chatenoud *et al.*, 1986; Frodin *et al.*, 1992; Iitaka *et al.*, 1991; McCarthy *et al.*, 1988), 可以有抗独特型, 抗同等型, 或抗抗独特型特异性 (Frodin *et al.*, 1992; Reinsberg, 1995)。一般而言, 同等型抗体比独特型抗体更常见 (Lind *et al.*, 1991), 但一些完全抗独特型抗体的例子也已经有报告 (Legouffe *et al.*, 1994)。HAMA 效应的大小和持续时间表现出很大的变异性。报告的血清浓度范围从 μg/L 至 g/L 不等 (Ledermann *et al.*, 1988; Moseley *et al.*, 1988), 并可在接触小鼠免疫球蛋白后持续存在于血液中几周几个月 (Baum *et al.*, 1994; Sharma *et al.*, 1992)。

具有对一系列动物免疫球蛋白特异性的循环抗体有被报道; 抗兔 (IgG, IgA 和 IgM) (Hiemstra *et al.*, 1988) 和抗山羊抗体 (Larsson *et al.*, 1981; Vandalem *et al.*, 1980) 尤其重要的是这些动物是免疫分析试剂的抗血清来源。例如, 用免疫抑制剂处理后可以出现人抗兔抗体 (HARA) 和人抗马抗体, 分别为兔和马抗胸腺细胞球蛋白 (ATG) (Hiemstra *et al.*, 1988; Harkiss, 1984)。其他引起的干扰的抗动物抗体包括抗绵羊抗体 (Hunter and Budd, 1980) 和抗牛抗体 (Kwong and Teale, 1994)。此外, 在接受嵌合体抗体治疗的病人体内检测到了抗嵌合体抗体 (Afif *et al.*, 2010; Buist *et al.*, 1995; Goto *et al.*,

2009)。

并非所有的动物源性药物都会产生抗体。Digibind™，使用一种绵羊抗地高辛 Fab 治疗地高辛中毒未见有导致抗绵羊抗体形成的报告。而且，并非所有的抗动物抗体都会引起干扰。在以猪 VIII 因子治疗的血友病患者中形成的人抗猪抗体并没有检测到干扰的报告 (Morrison *et al.*, 1993)。

另一个问题是，异种动物 IgG 分子之间的序列同源性会导致抗动物抗体和动物免疫球蛋白之间的交叉反应。这一现象已经在一份研究中得到说明，该研究中小鼠 IgG1、小鼠 IgG2a、大鼠 IgG 和小鼠、山羊或绵羊血清可以以相似的效果阻断干扰抗体 (Sampson *et al.*, 1994)。另一项研究表明，在双抗夹心法 CK-MB 实验中，用非免疫动物血清处理后，假阳性干扰可以减少 80%，有效性顺序为：小鼠 > 绵羊 = 牛 > 大鼠 > 豚鼠 > 兔 >> 猫 = 狗 (鸽子血清没有效果) (Thompson *et al.*, 1986)。

FDA 已经认识到来自抗动物抗体的问题，并要求体外诊断设备的包装说明书申明如下限制："与任何使用小鼠抗体的试验一样，存在样品中 HAMA 带来干扰的可能性 (FDA 美国卫生署，1996)。FDA 随后建议："如果化验试剂盒采用小鼠单克隆抗体，则应包括一项警告，说明接受过小鼠单克隆抗体进行诊断或治疗的病人的标本可能含有人抗鼠抗体 (HAMA)，因此测试时可能显示假性增高或假性降低的值。" (Services FDA US DoH, 1996)。

循环抗动物抗体不仅是人类的问题。在兽医学中，以鼠单克隆抗体治疗后，在狗的体内发现了犬抗兔抗体 (CAMAs)，并且在所有受测狗中都检测到了预存的低水平 CAMA。在设计用于检测猫白血病病毒感染的测试中发现了假阳性测试结果，这是由于检测到的抗小鼠免疫球蛋白循环抗体的存在。该研究估计 0.14-0.57% 的猫有抗小鼠抗体。

抗微生物抗体

抗微生物抗体也是干扰的一个来源。在一个具有有限 IgM lambda 副蛋白的病人中，大肠杆菌败血症与心肌肌钙蛋白 I，促甲状腺素，Hgg，a-胎儿蛋白和 CA-125 的免疫检测结果的高假阳性有关。这种假阳性结果可以通过与无关鼠单抗孵育或以福尔马林杀死感染病人中的大肠杆菌以清除 IgM lambda 副蛋白而得以矫正。因此表明 IgM lambda 抗体应答产生了一种具有抗免疫球蛋白活性的抗体，并且导致了假性增高的测试结果。

异嗜性抗体

异嗜性抗体是所产生的抗特异性较差的抗原的抗体，通常是具有多特异性的弱抗体。这不同于以动物免疫球蛋白治疗后产生的抗强特异性抗原的人抗动物抗体。异嗜性抗体能在双抗夹心法中桥连捕获抗体和检测抗体，但是在竞争法免疫测试中无法与具有高亲和性的抗原

竞争。有提议指出，当没有用动物免疫球蛋白或其他高特异性的免疫原进行治疗的历史，并且干扰抗体表现出多特异性或者天然的类风湿因子活性时，这类抗体应该被称为异嗜性抗体。

抗标记物抗体

检测抗体中的标记也可能成为循环抗体的靶点。有实验观测到一类仅与检测系统相关的干扰，当以辣根过氧化物酶为标记时干扰存在，而以碘 125 为标记时干扰不存在，这表明干扰物具有抗过氧化物酶标记的特异性。识别仅呈现在检测抗体共轭物上的抗原表位的循环抗体曾导致了全血他克莫司免疫检测试验中的假阳性。免疫吸附研究表明，干扰物会结合抗体与 beta 半乳糖酶的共轭物，但是不结合单独结合抗体/beta 半乳糖酶。

类似地，电化学发光免疫试验中的钆螯合物标记也可能成为干扰抗体的靶标。在一些血清中发现抗钆抗体会导致假性增高的 Ft3 结果。抗体会结合到钆化抗 T3 抗体上，而不结合未标记的抗体。有趣的是，这种抗体并不干扰无甲状腺素的电化学发光免疫试验及 TSH 试验，尽管这两种实验都使用钆标记抗体试剂，这被认为是因为 Ft3 试验中使用低浓度的钆标记抗体而对于干扰更敏感。在电化学发光免疫试验的背景下，可能源于循环抗链霉亲和素抗体的干扰被认为是假性高血清维生素 D 结果的原因。

自身抗体和抗待测物抗体

类风湿因子是发现于大多数具有类风湿病及其他相关或不相关疾病的患者血清中发现的一类循环 IgM 自身抗体。它是免疫检测中的一种已知干扰物，在双抗夹心法中通过与 IgG 抗体试剂的 Fc 区相互作用而产生干扰。RF 能通过阻断捕获抗体引起假阴性结果，也可通过桥连捕获抗体和检测抗体而导致假阳性结果。在一项研究中，心肌肌钙蛋白 I 微粒酶免疫检测中的 RF 导致的假阳性干扰可以通过以抗 RF 多克隆抗血清进行预处理而得以消除。

抗胰岛素抗体能够通过结合胰岛素使它无法与检测抗体结合而导致胰岛素的假性低值，然而通过沉淀法清除这类抗体可以消除这类干扰。

大量研究表明，抗肌钙蛋白抗体存在于不同的病人群中，包括血液供体中抗 cTnI 和 cTnT 自身抗体的共存。这些抗体隐藏了肌钙蛋白的释放，因此导致假阴性结果。另外有报道，在一位心脏病患者中发现了持续存在高水平的 cTnI，这是因为循环 cTnI 和 IgG 复合物的存在。

巨催乳素是催乳素和抗催乳素的复合物，这种循环复合物能导致明显的高泌乳素。然而催乳素免疫实验中的巨催乳素的干扰可以通过超速离心或 PEG 沉淀而得以消除。

副蛋白（病变蛋白）和免疫复合物

副蛋白的存在于免疫干扰有关。例如，有报道在含副蛋白（IgG kappa 和 IgM lambda）的病人中出现假性增高的 TSH，并且这些副蛋白能在异嗜性抗体阻断管中被阻断。这种干扰

是特意针对 UniCelDxC880i，并且只有在单克隆带消失后才可正常化。副蛋白能引起显著异常激素水平的另一种途径是通过提供额外的激素结合能力。也有报道称，IgA-lambda 分泌性多发性骨髓瘤导致甲状腺素 (T4) 和三碘甲状腺氨酸 (T3) 总量的假性增高。这种副蛋白结合 T4 和 T3 而作为一种额外的甲状腺激素结合蛋白，从而引起这些激素的血清浓度升高而不是干扰放射免疫试验 (RIA) 本身。

在一些副蛋白血症的病例中，副蛋白的浓度足够高以至于显著提高血清粘性，而影响样品的准确配剂。实验表明，因多克隆 r-球蛋白而呈现高粘性的样品能以免疫检测方法特异性的方式导致 RIAs 试验中的 T4 评估值假性增高。

由于循环免疫复合物而呈现高粘性的样本能在免疫比浊实验中通过反应复合物中 PEG 沉淀作用而干扰实验结果。放射性免疫扩散方法中由于分子间相互作用导致免疫球蛋白无法迁移也会对实验产生干扰。

药物，草本治疗，血液替代物和显像剂

处于治疗或诊断目的而对患者施用的制剂（如，基于抗体的显像剂）也是包括免疫检测试验干扰在内的各种测试干扰的来源。

药物

药物可能通过体内作用改变待检物的浓度，这既可能是该药物所期望的效果，也可能并非所期望的效果。更常遇到的是一种由药物本身或其代谢产物对分析反应的效应造成的体外干扰。各种药物干扰也有被统计归纳成目 (Young, 2000)。

一些药物与抗体试剂的交叉反应，如氟氢可的松派生物交叉反应可产生皮质醇假阳性结果，另外，代谢产物交叉反应并使药物测量更复杂，如环孢霉素 A 的免疫检测试验中环孢霉素 A 的代谢产物干扰就是一个例子。另一些药物，如安乃近也被发现会干扰以过氧化物酶为标记的免疫检测试验。Digibind-----一种用于治疗地高辛成瘾的地高辛-Fab 抗体-----为药物干扰提供了一个有趣的例子。通过直接结合洋地黄毒苷，Digibind 能在体外的荧光极化免疫检测实验和化学发光免疫检测试验中对洋地黄毒苷的总浓度测量产生阴性干扰，并且对后者的影响程度更大 (Digibind 能在体外中和洋地黄毒苷和洋地黄毒苷配基)。

草本治疗

最近的令人担忧的是，草本治疗也可引起干扰，尤其是在地高辛免疫检测中中药蟾酥和丹参会产生影响。摄取 St Jhon 麦芽汁与异常低水平的环孢素、地高辛和茶碱有关 (Dasgupta, 2003)。使用西药（如苯妥英）污染的中药，是假阳性结果的又一来源。

血液代用品

以聚合血红蛋白或氟乳剂(例如, Perflubron)为基础的血液代用品正在发展为临时氧载体。这种药物的使用造成的一个有害后果是, 用过基于血红蛋白的血液代用品的患者的血清和血浆样本呈红色, 而使用全氟烃药物的患者的样本看上去是浑浊的。虽然有些免疫检测试验不受存在的聚合血红蛋白血液代用品的影响, 另外的却显示阳性和阴性干扰。然而, 在这些研究中, 并未发现由于存在基于全氟烃血液代用品的存在而产生免疫检测干扰 (Ma et al., 1997)。

对血红蛋白氧载体 HBOC-201 (戊二醛聚合的牛血红蛋白) 的研究表明, 在各种治疗药物免疫检测试验中, 这种血液替代物的存在 (体外浓度—60 g/L) 不会产生的显著干扰(卡拉斯 et al., 1997)。与此相反, 对 Hemospan®——一种结合 PEG 的人血红蛋白——的研究表明, cTnI 的免疫检测试验(Beckman Access® II method)中存在阳性干扰。

造影剂

在对冠状动脉造影术中使用的 12 种不同的造影剂进行的体外研究中发现, 在 Opus Magnum™ cTnI 实验中所有受测试剂都有假阳性结果, 但只有一种造影剂(脂醇; 罂粟籽油)在 ACCESS cTnI 试验中得到了阳性的结果(Lin et al., 2006)。一项单独的研究表明, 碘化非透明造影剂(Ioversol 350, Iopamidol 370, Iomeprol 300, Iomeprol 400, Iohexol 300)和钆基造影剂(gadopentetic acid)干扰了对癌胚抗原(CEA), CA-130 以及组织多肽抗原的免疫放射实验(Watanabe et al., 1998)。然而, 在一项针对钆基磁共振造影剂干扰的研究中, 没有观察到对多个免疫分析物产生免疫分析干扰(Proctor et al., 2004)。

黄疸, 溶血, 脂血和其他样本基质成分

高水平的胆红素(40mg/dL)可使微粒酶免疫测定法测定的 cTnI 浓度在统计学上显著降低, 但这种干扰的机制尚不清楚(Dasgupta et al., 2001)。

在 cTnT 免疫分析中观察到由于溶血或高水平血红蛋白而引起的阴性干扰。此外, 在溶血过程中从红细胞中释放的蛋白酶会通过降解 cTnT 而起到这种作用, 如蛋白酶抑制剂(pepstatin A)可减少这种阴性干扰即可证明。

样本的稀释通常会限制脂血症的任何不良影响, 但不管怎样, 它已经被证明会导致对睾酮(欧文等人, 2010 年)的电化学荧光免疫分析的高水平(222.5 g/L)产生阴性干扰。此外, 脂血症是免疫比浊试验(例如, 载脂蛋白 B、触珠蛋白 B 的检测)中的干扰源(Bossuyt and Blanckaert, 1999; Vander Heiden et al., 1983)。

样品基质中的其他成分也可能产生阳性干扰。在以 Stratus fluorimetric EIA 法测定 cTnI 的试验中, 含有碱性磷酸酶的样品中出现阳性干扰。这种试验是基于样品的辐射扩散和试剂远离含固定捕获抗体的中央涂样区。样品中高水平的内源碱性磷酸酶可能并不能从中央区冲洗干净, 因此会模拟被捕获的碱性磷酸酶共轭物, 并导致假阳性结果, 当使用血浆样品时纤维蛋白原也可能是干扰的原因, 但这种干扰可通过热固定消除。由于血清不完全分离而存在的微小纤维蛋白束会干扰免疫测定, 然而重复离心可以消除这种干扰。

另一个有趣的干扰例子是来自基质的不稳定性。先前在苯妥瑞 RIA 试验中, 跨国运输(2 周的运输时间)的液体对照血清中出现了苯妥瑞的阳性干扰。这种干扰是由于在运输过程中对照血清中的非酯化脂肪酸的释放。据推测, 非酯化脂肪酸取代了苯妥瑞非特异性地结合血清蛋白, 使更多的苯妥瑞可与被标记的苯妥瑞竞争抗体结合位点; 这样就导致了测量的苯妥瑞的假阳性增加。

采样, 残余物和污染

假阳性也可能来自污染或采样时自动分析机上的残余物。好的实验室做法通常是消除样本上的污染。通常, 免疫分析机上的清洗系统要最优化, 以使因配剂探针上的残余样品的连续转移导致的残余物极度低(如 $<0.001\%$)。样本类型特异性的进一步问题在于, 血清样品中纤维蛋白的存在导致针对 cTnI 浓度的免疫检测中的假阳性干扰(AxSym[®] analyzer method)(Kazmierczak *et al.*, 2005; McClennen *et al.*, 2003)。

血液收集管

血液收集管是一种复杂的装置, 它是由不同材料的多种成分制成的, 可以与样品中的成分相互作用, 也可以将干扰材料混入样本中。在过去, 由于药物对分离凝胶的吸附作用, 这是对治疗药物监测的一个特殊问题, 存在于收集管和储存条件中的不同防腐剂可能会影响测试结果(Tate and Ward, 2004; Bowen *et al.*, 2010; Evans *et al.*, 2001)。同样地, 硅化的塑料管被证明在 ACTH RIAs 中引起假阴性结果和在 c-反应蛋白免疫分析中出现假阳性结果。

最近, 在竞争法免疫检测中免疫分析平台依赖性假阳性干扰, 尤其是 T3, 已被确认并将其部分归因于血清分离管的成分, 有机硅表面活性剂 Silwet[®] L-720 (Bowen *et al.*, 2005, 2007)。这种表面活性剂被证明能从固相支持物中取代捕获抗体, 因此在实验中, 标签将会丢失, 这将模拟出高浓度的分析物。事实上, 每一个收集管中都有表面活性剂的混合物, 每一种添加物都有可能干扰免疫分析。

这一收集管添加物引起的干扰的特殊例子给出了一个重要的提示,当对控制组进行与病人样品完全相同的处理时,实验的控制组才起到最好的对照作用。大多数具有自动免疫测定的实验室的标准做法是,,将控制试剂储存在机器中,并在需要的时候从机器中直接取样。在这过程中,控制试剂不会与收集管接触,从而避免了这类干扰。

抗体试剂的交叉反应

在免疫试验的早期,一些抗血清是交叉反应的,这导致了假阳性(例如,hCG 试验中的黄体激素)(Thomas and Segers, 1985)。现在,具有低交叉反应性的高特异性抗体占主导地位;由于在样本中存在结构相似的物质(例如,药物或药物代谢物,或有相同亚基的激素)(Steimer, 1999),交叉反应可能在某些试验中仍然是一个问题。在免疫试验说明书中的特异性性能特征特异性部分中,特别提到了交叉反应的问题。本节阐述了分析抗体与相关的候选干扰物间的交叉反应。例如,在hCG 试验中,FDA 建议,要对具有高生理浓度的黄体素(LH),卵泡刺激素(FSH)和促甲状腺素(TSH)的样本进行特异性研究。高浓度的黄体素(TSH)不应该与所用的hCG 抗体产生显著交叉反应。对人胎盘催乳素和人生长激素也可进行相似的研究。样品的强化是必须的。(Services FDA US DoH, 1996)

高剂量钩状效应

假阴性干扰的另一种来源可归因于高剂量钩状效应。在这种情况下,由于高浓度的待检物对捕获抗体和检测抗体的饱和使得高浓度的待检物与更低浓度的待检物得到相似的结果。在定性和定量的hCG 试验中,因为有hCG beta---待检物的替代物的存在而产生相似的效果(格林纳奇等人,2010年;Gronowski et al .,2009)。在一些未检测到hCG beta 试验中,因为竞争性hCG beta 分子仅饱和两种抗体中的一种而产生假性降低的结果。

确认潜在实验干扰的方法

在临床实验室的背景下,已经提出了许多方法来检测试验干扰。这些方法中的许多都是在实验室中进行的技术测试、测量或处理,但是发现和确认检测干预存在的一个有力的工具是要认识到测试的临床环境。事实上,在许多医疗事故和病人的不良结果中,临床医生在进行判读时起初并不相信病人的测试结果。但是,由于他们没有意识到免疫分析的干扰,他们重复了多次错误的测试,以使自己相信测试结果的临床意义。有时,悲剧的后果是不必要的手术、化疗和/或绝育手术。

在理想的情况下,临床医生面对一个不符合病人临床表现的测试结果时要咨询实验室。临床医生(或病人)带着对免疫分析结果的怀疑与实验室接触时是一个考虑分析干扰的可能

性的机会。如果错过了这个机会，那么用来评估和证明免疫分析干扰的各种方法几乎没有用处。

除了提高临床同仁对免疫分析干扰的认识外，实验室还可以通过检测结果与其他实验室结果的一致性，以及在疾病流行情况下评估测试结果的可能性(贝叶斯分析)来识别潜在的干扰。

临床意识

并不总是有一个合适的场所可以用来适当地教育临床同仁，使其意识到免疫分析干扰的可能性。在医院实验室的环境下培养临床医生的通常机会可能是通过电子医疗记录和实验室测试订购系统。通常的机会是通过参与教学、临床会议、实验室通讯和经电子医疗记录和实验室测试判读系统通知等方式教育具有医院实验室背景的临床医生。

另一个机会是教育在解剖/外科病理学上的同仁，他们可能会定期与临床医生就具体病例进行密切的交流。在我们的经验中，肿瘤会议对此尤其有效，因为在会上经常讨论到肿瘤标志物的免疫分析。一位外科病理学家在讨论组织学发现时，可能也会抓住机会，在讨论意外发现的血清肿瘤标志物时，提到免疫分析干扰的可能性。

测试结果的可信性审查

对免疫检测结果的综合解释可以在附加的实验室检测或基于疾病流行的统计概率的背景下进行。这类工具可以在质量保证审查中使用，也可以在实验室信息系统中实现自动化。

关于在所有可获得的实验室数据的背景下对测试结果的判读，最近的一项对甲状旁腺激素(PTH)的研究通过排除有实验测量值确定为具有临床可信理由的例子后，确定了异嗜性抗体存在的潜在例子。该研究将PTH和血清25-羟基维生素D(25VTD)及钙离子结合起来，并估计了肾小球滤过率(eGFR)。设定了一项规则，当25VTD，离子钙及eGFR都在其各自的范围内，那么就将高水平的PTH标记为可疑。基于这一规则，9%的高水平PTH样本被确定为可疑，并以异嗜性抗体阻断管(Scantibodies, Santee, CA)处理。在这些可疑样本中，以阻断管处理后40%的样本PTH下降了，这其中又有一半样本的最终测定值下降到了正常参考范围内。而后检测剩余的60%可疑样本中是否存在RF，若确定为RF阳性，则以RF沉淀剂(IBM, Hamburg, Germany)处理，这又发现24%异嗜性抗体阴性的样本存在RF干扰。

这种确定可以样本的方法对于具有精密实验信息系统的实验室具有更广泛的潜在应用。事实上，作为例行质量保证问题，可以将规则写进信息系统，以标记那些基于实验室测试结果背景确定为不可信的免疫检测结果。除PTH外，甲状腺功能和其他激素免疫检测通常

是多检测物或多参量分析的一部分，并且要服从这种鉴定方法。基于可疑病例的鉴定，可以加强记录复审和实验室研究。

另一种确定免疫干扰的有力工具是，基于疾病患病率评估测试结果的可能性。先前有实验研究了统计学方法在发现实验错误中的应用 (Le *et al.*, 2011; Oosterhuis *et al.*, 2000)。最近的一项研究应用贝叶斯分析的统计方法来确认免疫干扰 (Ismail and Ismail, 2011)。该研究的作者证实了贝叶斯分析法对于确认各类检测物，包括 TSH, PSA, Hcg, 及肌钙蛋白，中的干扰的潜力。以 PSA 为例，分析的起点是要意识到在无症状的 50 岁男人中前列腺癌的发病率约为 0.02%。根据文献中报导的免疫检测假阳性率为 0.4%，可计算出假阳性测试的概率大约为 95%。随着年龄增长，发病率也会增加，因此假阳性率会降低。因此年轻人群中的高水平 PSA 比老年人群中的更可疑。在 TSH 的例子中，临床症状不明显的甲状腺功能衰退在青年和儿童中的发病率为 1%，与之相比在老年女性中的发病率则为 17%。再者，假定假阳性干扰率为 0.4% 的情况下，老年女性患者中高水平 TSH 的出错率为 2%，与之相比，青年和儿童中是 30%。在临床实验室中复查所有的免疫检测结果是不切实际的，但是找到一种能在实验室信息系统中实现自动化的特定方法，能为免疫检测中干扰的确定提供额外的安全保障。

证明干扰存在的方法

一旦潜在的干扰被确定，有多种方法可以证明测试结果是由于干扰造成的。

线性梯度稀释

检查参考范围之外的免疫实验结果的最简单直接方法做线性梯度试验。包含异嗜性抗体的免疫干扰不是典型的线性稀释。这种研究最常用的稀释比率是 1: 5 和 1: 10，表 5 列出了汗干扰物的样本的稀释研究结果的例子 (Landau-Levine *et al.*, 1999; Pan and Wang, 2011; Zhu *et al.*, 2008)。

	Dilution Factor ⁺	Result Corrected for Dilution ⁺	Comments ⁺
Patient A (Pan and Wang, 2011) ⁺		BNP assay (pg/mL) ⁺	
Untreated ⁺	1 ⁺	1551 ⁺	Does not dilute linearly. HAMA assay was positive (40.5 $\mu\text{g/L}$) thus confirming HAMA as the interferent ⁺
Untreated ⁺	2 ⁺	1061 ⁺	
Untreated ⁺	5 ⁺	247 ⁺	
Untreated ⁺	10 ⁺	31.9 ⁺	
Untreated ⁺	100 ⁺	2.56 ⁺	
Patient B (Zhu et al., 2008) ⁺		cTnI ($\mu\text{g/L}$) ⁺	
Untreated ⁺	1 ⁺	19.99 ⁺	Initial result differed from TnI test performed on patient by another method ⁺
Untreated ⁺	Diluted ⁺	1.46 ⁺	Does not dilute linearly (93% decrease) ⁺
Treated in a HBT ⁺	1 ⁺	0.03 ⁺	Reduction in test value after incubation in HBT indicates a heterophile antibody interference ⁺
Patient C (Landau-Levine et al., 1999) ⁺		TSH (mIU/L) ⁺	
Untreated ⁺	1 ⁺	9.9 ⁺	Initial result differed from TSH test performed by another laboratory ⁺
+Mouse and goat IgG ⁺	1 ⁺	1.8 ⁺	Reduction in test value after incubation with IgG mixture indicates an interference, confirmed as HAMA by assay (44 $\mu\text{g/L}$) ⁺

表 5: 对于含干扰物的样本的稀释和阻断研究的例子: 病人 A: HAMA 干扰阳性; 病人 B: 阳性干扰并用 HBT 处理; 病人 C: 阳性干扰, 以 IgG 混合物为阻断剂

通过其他方法测试

免疫试验干扰可能对测试中所用的抗体克隆具有特异性。当怀疑存在干扰时, 应用其他方法测试样本。最重要的是考虑到不同的方法必须用不同的抗体克隆。普遍的做法是, 从针对给定待检物的相同抗体克隆的不同生产厂家那里获得免疫检测试剂。另外, 如果样品被送到第三方实验室进行检测, 特定的方法和抗体克隆应该被再次查实。

由于尿液中不含免疫球蛋白, 检测尿液中的相关待检物会更可靠。例如, 因血清中 β -hCG 的存在, 使得血清测试更易受干扰, 而尿液不会。尿液的这种特性使得美国妇产协会 (ACOG) 建议在假阳性血清 hCG 测试结果中使用这一方法 (ACOG. Committee, 2002)。

对样本进行处理以消除干扰

有多种化学处理和许多商业试剂可用于清除或阻断样品中的异嗜性抗体。以相对温和条件清除干扰物的方法包括 PEG 沉淀和暴露于固定的蛋白 A 或蛋白 G。对于像 CEA 这样更稳定的待检物, 可用酸提取或热灭活来清除干扰物 (Primus *et al.*, 1988)。然而, 一种非常便利的方法是使用阻断管, 如异嗜性抗体阻断管 (HBT) 或非特异性抗体阻断管 (NABT) (Scantibodies Laboratories, Inc. Santee, CA) (<http://www.scantibodies.com/blockers.html>)。样品在试管中孵育, 位于试管中冻干小球中的试剂可与样品中的任何干扰物结合。这类预处理程序只用于证实原始的实验结果或者表明因干扰物存在原始结果不对,

而不能用来得出可报告的结果。林一种非特异性的样品处理程序添加动物免疫球蛋白或非免疫血清。这可能并不总是有效，在试验中，干扰的阻断要求注入患者体内的特异性单克隆抗体，并要求与高浓度抗体进行持久孵育。也存在一系列各种商业来源的特定配方阻断剂。

预防免疫干扰的措施及目前的监管指南

在临床使用前的测试研发和审查阶段就需要鉴定免疫测定对干扰的敏感性。另外免疫分析试剂的干扰和预分析变量也需要检测。病人服用的会存在于血清中的药物，与样品一起收集的抗凝剂类型，以及用于收集的试管类型。

阻断剂和测试样本盘

许多商业试剂中包括阻断剂及一些对干扰物(例如，异嗜性抗体，RF)呈阳性的样本，可以用来评估和验证为特定试验选择的阻止剂的有效性。

最近的一项针对自身免疫病患者的细胞因子免疫分析研究就证明了这点，当针对具有很高干扰潜能的患者群体时，要调查多种异嗜性抗体阻断剂以找到能消除干扰的最好的试剂。除了在测试审查阶段确定阻断剂外，还要检查各种阻断试剂以看它们是否与测试兼容(例如测试阻断剂是否会引起干扰)。

阻断剂的不同配方可以从各个公司(如 Scantibodies Laboratories, Inc. (Santee, CA), Bioreclamation, LLC (Hicksville, NY), Millipore (Danvers, MA), IBL International (Hamburg, Germany), and Meridian Life Science Inc.) 获得。

法规与标准

临床实验室中分析干扰的一般概念在几十年里得到了很好的认识。对于免疫分析，实验室受到联邦法律(CLIA 88)的管制，规定要在验证新测试时，检查诸如脂血症、溶血和黄疸等常见的干扰。免疫分析干扰也必须由临床试验厂家确定，而且是美国食品和药物管理局(FDA)批准的一项新的免疫检测的标准要求。然而，解决内源性抗体干扰的合适方法很少有监管指导。最近有一个被FDA认定为完整标准的综合性CLSI文件。

CLIA 文件中包含由具有美国临床实验室评审与监察资质的组织(如美国病理学家联合委员会)提出的评估临床实验室测试干扰效果的88项要求。

免疫分析干扰的临床后果

下面的临床案例表明了免疫分析干扰的一些悲剧后果。

Rufer 案例

现在有许多文件案例报道和系列具有临床意义的免疫分析干扰的案例。然而在美国，尤其有一个案例，因为其临床后果，解决的时间轴和通过司法系统最终的经济判决，而受到了媒体的广泛关注。由于血清 hCG 的假阳性结果，Jennifer Rufer 经受了数十次临床测试，放射成像，多次化疗，肺手术和子宫切除术 (Rufer, 2003, 2005)。

Rufer 女士起初表现出腹痛和阴道出血，并被妇产科医生诊断为宫外孕。经过商业实验室检测，其血清 hCG 水平高，这与宫外孕一致，病人接受了低剂量的化疗。然而经治疗后 hCG 并没减少，因此她求助于一所大学医院的妇科肿瘤学家。该大学医院测定她的血清中 hCG 水平仍然很高，这致使她被诊断为妊娠滋养层病，并因怀疑是转移性癌而接受高剂量的化疗，子宫切除术和肺部手术。

不幸的是，商业实验室和大学医院都使用了来自同一厂家的 hCG 检测试验。该大学医院的实验室主任通过检查不同批次的试剂并对病人样品进行稀释而做了大量研究。Rufer 女士的样品是 50 分被测样品中唯一的未经稀释分析的样本。这一结果报告给了厂商，但厂商并未给实验室回应，也没做出解释。hCG 因干扰而出现假性增高的可能在当时的医学文献中并不广为人知。厂家包装说明书申明了如下限制：

1. 用于诊断目的，hCG 的测试结果应与其他数据，如症状，其他测试结果，临床印象等联合使用。
2. 高水平 hCG 与一些异常生理状态有关，若与临床证据一致则应予以考虑。
3. 接受鼠单抗治疗或诊断的病人的样品可能含有 HAMA。当使用鼠单克隆抗体的检测试剂盒进行测试时，这些样本会表现出假性增高或降低的值。
4. 少数情况下，由于异嗜性抗体存在或非特异性抗体的结合，hCG 的水平也可能始终显示高水平。若 Hcg 水平与临床证据不一致，测试结果应该用其他 hCG 方法证实。

最后，该大学实验室将样本送到另外两个临床实验室：一个使用不同厂商的试剂得到了一个正常的结果；第二种使用的是与该大学实验室相同的制造商的试剂，同样得到了一个较高的水平。厂家进行了内部评估，最初得出的结论是，试验是按照预期进行的。该大学医院的医生最终确定，Rufer 的血清 hCG 是由于干扰造成，而她接受的治疗都是不必要的，Rufer 起诉了该大学医院和 hCG 测试的厂家。该大学医院因医疗事故而被起诉，而该测试的厂家则因产品责任而被起诉。产品的责任是由于人们相信厂家事先知情，并且没有警告医生他们的检测可能会产生假阳性结果，导致妊娠病的误诊和不必要治疗。这个产品说明书是不充分的，因为它没有说明这个检测的异嗜性增高可能是假的，或至少这种分析是可疑的。此外，厂家收到了 40 多起假阳性结果的投诉，其中包括多例与 Rufer 一样进行了不必要的化疗和手术

的病例。同年秋天，Rufer 最初被诊断时，厂家起草了一份给医生的公开信，如结果可疑建议进行尿检以确认血清 hCG 的结果，但并未发出。陪审团的审判判决 Rufer 和她的丈夫获得了 1600 万美元的赔偿，该大学医院承担一半的责任。

Rufer 的案例引起了临床医生，实验人员，免疫分析测试厂家对于内源性抗体干扰的高度意识。重要的教训包括：

1. 免疫分析不应该作为一个独立的诊断工具，而必须与其他临床发现，成像研究或实验测试值一起使用。
2. 假的免疫分析结果能导致灾难性后果。
3. 临床医生对测试结果的担忧和怀疑应该受到高度尊重，并被进一步研究。
4. 实验室不能将研究的责任仅归结于测试厂商一方。
5. 在美国，实验室与其所使用的测试厂家负有同等的责任。

具有异嗜性干扰的男性泌尿肿瘤患者

在 2000 年报道的一系列病例中观察到，在缺乏活动性疾病的情况下，睾丸癌的血清标记会假性增高 (Morris and Bosl, 2000); 然而并没有确定假阳性的机制，异嗜性抗体也不被认为是可能的病因。随后，在泌尿科肿瘤患者中出现了多例异嗜性抗体具有临床意义的病例。

在一个病例中，一名 39 岁的患有 IIB 转移性恶性生殖细胞肿瘤 (GCT) 和高血清 hCG 的男性接受了睾丸切除术，并进行了三次联合化疗 (Ballieux *et al.*, 2008)。血清 hCG 最初是正常的，但是 2 个月后，hCG 升高了。病人接受另一个腹膜后淋巴结检查的手术，结果显示为肿瘤阴性。血清 hCG 进一步升高，胸部 CT 扫描显示纵隔淋巴结膨大。然后病人接受了二次和三次化疗，而这并没有使他的血清 hCG 正常化。重新分析显示，在第一轮化疗之前的血清样本被证明血清 hCG 水平高；然而，随后所有的高水平血清 hCG 都为假阳性。

异嗜性抗体干扰男性患者的另一些病例包括，一名 44 岁男子因化疗后 hCG 仍然处于高水平而被诊断为早期非精原细胞瘤 GCT 而接受了睾丸切除术 (Gallagher *et al.*, 2010)，另一 43 岁男子在其 5 年的常规跟踪检查中出现假性增高的 hCG 而被诊断为早期精原细胞瘤 GCT 并接受了睾丸切除术 (Trojan *et al.*, 2004)。

宠物

人抗兔抗体 (HARA)

一位在其将近 29 岁时出现不孕和闭经的女性的病例显示了 HARA 造成的糟糕结果 (Berglund and Holmberg, 1989)。测试结果显示了高浓度的血清卵泡刺激素 (FSH)，进而

导致了包括内镜检查,剖腹手术和子宫活组织检查等一系列不必要的诊断程序。几个月后,病人的常规月经周期重新开始了。然而,她的FSH水平仍然过高。用基于山羊抗体的检测方法对她的样品进行了重新分析得到了正常的FSH值。

一名52岁的妇女因持续高水平的肠道激素而被要求进行进一步审查,这是人抗兔抗体的一个较好点的结果的案例。其在先前16年被诊断为肠道易激综合症(Park *et al.*, 2003)。

先前的研究包括腹部计算机X射线断层扫描,胰腺磁共振成像和奥曲肽扫描。所有这些成像研究均正常,因此,异常的血液测试结果要归因于胰岛细胞的畸形生长。她所服用的唯一药物是来自雌激素移植物的雌激素。每年两次的磁共振成像研究正常,但是表明胰岛细胞存在畸形生长。

在参照中,病人的许多空腹肠道激素浓度仍处于高水平(肠道活性多肽 120 pmol/L (正常, <30), 胰多肽 72 pmol/L [<300], 胃泌素 125 pmol/L [<30], 胰高血糖素 63 pmol/L [<50], 生长激素抑制素 103 pmol/L [<150], 神经降压素 101 pmol/L [<100])。腹部成像和奥曲肽扫描均正常,并且对病人安排了钙刺激的胰腺血管造影术以确定她是否具有功能异常的胰岛细胞。

因为神经内分泌肿瘤分泌一种以上激素是不正常的,因此考虑到这一病人可能会出现干扰性抗体的可能性。一个更详细的临床历史记录显示,她和她的丈夫养了大量的宠物兔(一次多达80只),而且她有兔子引起过敏性鼻炎的经历。与兔子的进一步联系是因为她丈夫是英国兔子协会的一名官员。

用于测量病人肠道激素的放射免疫检测(RIAs)都基于兔子抗体。通过将低浓度的非免疫血清添加到胃泌素测定缓冲液中,对胃泌素的检测进行了阻断研究。最初的胃泌素检测浓度高达95 pmol/l(没有添加兔子血清)。添加0.5%和1%的兔子血清后,胃泌素浓度减少到<20 pmol/l,这在正常范围内(<30 pmol/l)。

血管造影术被取消了,因嗜性(兔)抗体对各种肠道激素检测试验的干扰而使病人被误诊为肠道易激综合症的错误诊断也被撤销了。

人抗山羊抗体 (HAGA) (Alvarez and Scott, 1993)

一位84岁的女性被免疫分析试验(Stratus CK-MB 测试结果, 12 - 15 fg/L)和电泳(>95% MM同工酶, 未检测到MB)确定为肌酸激酶水平异常增高。在测试中加入小鼠IgG以消除HAMA干扰,并未起到效果,表明样品中可能不含HAMA。然而添加正常山羊血清将CK-MB的值降低到了1.7 fg/L。这表明人抗山羊抗体是这种干扰的最可能原因。Stratus CK-MB试验将山羊IgG作为抗CK-MB-碱性磷酸酶检测抗体的成分。当使用不含山羊IgG的CK-MB检测

抗体时，干扰就会相应的消失。据推测，在 Stratus immunoassay 试验中，干扰抗体与山羊 IgG 反应形成的复合物会使未反应的检测抗体留在径向扩散设备的中央测量区。

人们所服用的药物(PARIKH *ET AL.* , 2010)

一名 35 岁的晚期肾病患者接受了尸体肾移植手术。根据协议，在移植当天，用兔 ATG 使他产生了免疫抑制；在移植后的第二天，用莫菲托、强的松和他克莫司继续对他进行免疫抑制。在他接受 1mg 剂量的他克莫司 12 小时后，由 Siemens Dimension® RxL immunoassay 检测到他的全血浓度为 24.4 ng/ml。由于移植后的预期全血浓度为 5 - 15 ng/ml，因此他克莫司的这一测量结果过高。病人一直有良好的临床表现，没有出现药物毒性或排斥症状，并反复测量他克莫司浓度。在移植后的第 3 和第 4 天，他克莫司的浓度各自保持在 24.0 和 23.6 ng/ml。测量了病人的类风湿因子(RF)，但结果表现为阴性。在移植后第 4 天仍获得高水平的他克莫司后，该临床实验室适时地将血液样品送到参照实验室以液相色谱质谱联用法(LC-MS/MS)测量他克莫司的浓度。该参照实验室测得的他克莫司水平为 <2ng/ml。因此病人的他克莫司剂量增加到了 2mg，一天两次。病人继续通过 LC-MS/MS 测试他克莫司水平，并开始降低到治疗范围内。

研究了该病人血清中的 HAMA 干扰，但是用 HBR(Scantibodies Lab. Inc)或无关鼠单克隆抗体处理并没有消除干扰。随后，通过检测对 Siemens RxL 法测量血清中环孢霉素 A 的干扰作用研究了血清中的抗 beta-半乳糖苷酶标记的抗体，该免疫分析利用了相同的半乳糖苷酶共轭物。Siemens 环孢霉素测量试验中病人血清未表现出干扰。随后的调查显示，这种干扰抗体是针对一种由抗他克莫司单克隆抗体与半乳糖苷酶结合物的抗原表位。

这个例子表明抗针对内源性抗体产生的试验干扰的标准研究方法可能对有的干扰抗体并不适用。该报告的作者推荐了一种发现用于治疗性药物监测的免疫测量中干扰的潜在方法。他们建议在开始免疫抑制之前对相关药物进行第一次测量。因此能很快确定由干扰引起的假阳性检测。

总 结

免疫测量是一种有力的工具，然而，应当牢记对生物学过程的评估。当免疫测量结果与病人的整体临床表现不符时，治疗医生应该谨慎对待。作为实验人员，我们的作用是注意临床医生和病人的关注点。我们不仅负责在极端测量结果背景下识别免疫测量干扰，而且需要建立识别免疫干扰的过程，以便不会对病人造成潜在的灾难性后果。