

IgM- κ 型M蛋白对凝血试验的干扰一例及原因分析

朱瑞玉, 彭湘明*

暨南大学附属广州红十字会医院检验科, 广东 广州

收稿日期: 2025年3月14日; 录用日期: 2025年4月7日; 发布日期: 2025年4月14日

摘要

目的: 通过一例华氏巨球蛋白血症患者探讨M蛋白对凝血试验的干扰, 提高检验者对M蛋白的认识, 避免影响临床的诊治。方法: 查看凝固曲线发现干扰因素, 通过进一步实验室检查明确干扰物质并分析原因。结果: 大量IgM- κ 型M蛋白在溶液环境改变时易出现沉淀干扰凝血实验的检测。结论: M蛋白可通过溶液浊度的改变干扰凝血实验的检测, 当发现患者凝血结果异常或与临床表现不符时, 应及时与临床沟通, 并查看凝固曲线, 必要时手工法进行复查。

关键词

M蛋白, 干扰, 凝血检测, 凝固曲线

Interference of IgM- κ Type M Protein on Coagulation Test: A Case Report and Analysis of Its Cause

Ruiyu Zhu, Xiangming Peng*

Department of Laboratory Medicine, Guangzhou Red Cross Hospital, The Affiliated Hospital of Jinan University, Guangzhou Guangdong

Received: Mar. 14th, 2025; accepted: Apr. 7th, 2025; published: Apr. 14th, 2025

Abstract

Objective: To explore the interference of M protein on coagulation test through a case of Waldenstrom

*通讯作者。

文章引用: 朱瑞玉, 彭湘明. IgM- κ 型M蛋白对凝血试验的干扰一例及原因分析[J]. 临床医学进展, 2025, 15(4): 1649-1653. DOI: 10.12677/acm.2025.1541103

macroglobulinemia, so as to improve the understanding of M protein in the laboratory and avoid affecting clinical diagnosis and treatment. **Methods:** The interfering factors were found by checking the coagulation curve, and the interfering substances were identified by further laboratory tests and the reasons were analyzed. **Results:** A large amount of IgM- κ type M protein was easy to precipitate and interfere with the detection of coagulation test when the solution environment changed. **Conclusions:** M protein can interfere with the detection of coagulation test by changing the turbidity of the solution. When the patient's coagulation results are found to be abnormal or inconsistent with the clinical manifestations, we should communicate with the clinic in time and check the coagulation curve, and manually recheck if necessary.

Keywords

M Protein, Interference, Blood Coagulation Test, Curve of Coagulation

Copyright © 2025 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 前言

凝血功能检测主要包括凝血酶原时间(PT)、活化部分凝血活酶时间(APTT)、凝血酶时间(TT)、纤维蛋白原降解产物(FDP)、D-二聚体(D-D), 常见的干扰检测的因素主要包括标本的溶血、乳浊, 采血量过多或过少以及用药等。M 蛋白来源于 B 细胞或浆细胞的单克隆增殖, 多见于多发性骨髓瘤、单克隆免疫球蛋白血症、华氏巨球蛋白血症及恶性淋巴瘤等[1] [2]。本文报告了一例 IgM- κ 型 M 蛋白对凝血检测产生干扰的华氏巨球蛋白血症患者, 通过分析凝固曲线找出干扰产生的原因, 报道如下。

2. 病例资料

患者, 女, 48 岁, 因“凝血指标异常”入院。1 月余前, 患者因手指外伤入住当地三级医院, 凝血常规结果显示: APTT > 180s, TT > 240s。患者自诉磕碰后易出现皮下瘀斑, 刷牙时易出血, 查体可见小腿、手臂少许皮下瘀斑。既往史无特殊。

完善相关实验室检查: 血常规: 白细胞 $6.47 \times 10^9/L$, 血红蛋白 119.0 g/L, 血小板 $326.0 \times 10^9/L$, 凝血功能: PT > 180 秒, APTT > 180 秒, TT > 180 秒, 纤维蛋白原 3.03 g/L; 免疫球蛋白检查: 免疫球蛋白 IgA 0.08 g/L, 免疫球蛋白 IgM 54.01 g/L, 免疫球蛋白 IgG 6.19 g/L, 总 IgE 16.70 IU/ml。血清蛋白电泳: 发现 M 蛋白条带; 血(尿)免疫固定电泳: 单克隆免疫球蛋白类型为 IgM- κ 型。骨髓细胞学检查: 淋巴细胞比例明显增高, 以成熟小淋巴为主, 并见浆样分化。考虑慢性淋巴细胞增殖性疾病骨髓象, 华氏巨球蛋白血症可能性大。流式结果: 可见约 3.5% 的成熟 B 淋巴细胞, 其免疫表型为 CD19+, CD20+dim, CD5+部分, CD10-, CD23-, FMC7-, CD79b+, CD200-, 胞膜免疫球蛋白 Kappa 轻链限制性表达。

综合以上结果该患者明确诊断为淋巴浆细胞淋巴瘤(华氏巨球蛋白血症)。

3. 方法及结果

3.1. 凝血检测

3.1.1. 标本处理

采集患者静脉血按照枸橼酸钠与血 1:9 抗凝, 3600 r/min 离心 10 min 分离血浆。仪器为 SysmexCS5100

全自动凝血分析仪, 试剂均为 SIEMENS 试剂。

3.1.2. 发现干扰

本实验室采用的是 CS5100 凝血分析仪, 原理主要是光学法, 根据凝固过程中浊度的变化来测定凝血功能。溶血、黄疸、脂血是干扰凝血试验分析前的主要因素[3], 首先查看标本状态, 发现标本澄清, 未见凝血、溶血、乳浊、离心分界面的凸起不整等异常。接着查看仪器的凝固曲线, 发现曲线形态异常且文字提示 PT、APTT、TT 检测不出, 仪器上显示 PT、APTT、TT 凝固曲线在反应起始就出现了透光度直接变为 0 的情况, 说明在刚加入试剂后溶液就发生了瞬时性浊度增高, 时间为 1~2 秒内, 提示检测过程中可能存在干扰物质引起浊度瞬时变化。

3.1.3. 手工法检测结果

按照说明书的手工法进行复查, 将试剂与血浆充分混匀后肉眼观察, 以见明显凝块形成为反应终点, PT 时间约为 16 S, APTT 约为 30 s, TT 约为 16 s。

3.2. 生化检测

3.2.1. 标本处理

使用分离胶采血管采集患者静脉血 3 mL, 5000 r/min 离心 5 min 分离血清, 仪器为罗氏 cobas c 702 全自动生化分析仪及 AU680 全自动生化分析仪。

3.2.2. 发现及处理干扰

患者的标本在罗氏 702 生化仪上检测时出现了“吸样错误”报警, 查看患者标本依旧是澄清的, 未见凝块, 样本量也是足够的, 于是将标本重新离心后再上机, 结果仪器依旧报警。而该标本在 AU680 生化仪上却能正常检测, 考虑可能是血清过于黏稠, 于是对样本进行稀释, 首先用蒸馏水稀释, 结果发现患者血清一与蒸馏水混合后立马变混浊而无法检测, 而将血清与生理盐水混合后并未出现沉淀(图 1), 最终采用生理盐水 3 倍稀释后检测。



Figure 1. Comparison diagram

图 1. 对比图

3.2.3. 稀释后部分检测结果

生化: 钾 3.99 mmol/l, 葡萄糖 7.2 mmol/l, 肌酐 228.0 μ mol/l, 肾小球滤过率估计值 21.3 mL/min, 碱性磷酸酶 60.0 U/L, 谷丙转氨酶 12.0 U/L, 胱抑素 C 0.6 mg/L, 总蛋白 36.0 g/l, 白蛋白 36.0 g/l, 球蛋白

72.0 g/l, 甘油三酯 1.20 mmol/l, 总胆固醇 4.60 mmol/l, 高密度脂蛋白 1.50 mmol/l, 低密度脂蛋白 3.00 mmol/l。

4. 讨论

华氏巨球蛋白血症(Waldenström macroglobulinemia, WM)是以血液中出现大量单克隆巨球蛋白(IgM)为特征的 B 淋巴细胞恶性增生性疾病[4]。分子对粘度的影响取决于其大小、形状和浓度。IgM 为五聚体, 分子量为 900~1050 kDa, 是人体中分子量最大的免疫球蛋白, 因此可导致全血、血浆和血清粘度极度升高[5]。而罗氏 c702 的吸样针是通过压力传感器来检测是否有凝块, 因此当血清粘度增高时, 阻力超出阈值就引起了吸样错误。

该患者 APTT、PT、TT 都延长, 说明患者可能存在严重的凝血功能障碍, 但患者的临床表现只是有轻微的出血, 且患者近期也未服用抗凝药物, 而手工法复查结果都在正常范围, 通过查看凝固曲线发现存在干扰物质影响检测, 最终通过实验室检查明确干扰物质为 M 蛋白。M 蛋白产生干扰的原因主要包括增加血液黏度、改变样品浊度、高剂量钩状效应等等[6]。近几年关于 M 蛋白在生化检测的干扰时有报道, 如血清钙、肌酐、胆红素、总蛋白等等, 这些干扰大部分都是因为检测过程中酸碱环境的变化引起 M 蛋白沉淀后出现浊度的变化导致检测异常[7]-[10], 而我们手工法加入试剂时也出现了浑浊, 说明加入试剂后存在某种变化导致蛋白沉淀。Margetić 等曾报道过一例 M 蛋白干扰 PT 及 TT 检测的 MUGS 患者, 该患者的血浆在 4℃冷藏过夜后出现白色凝胶状沉淀, 说明存在冷球蛋白影响凝血的检测[11], 而本例患者的血浆在冷藏后未出现沉淀, 说明低温并不会导致其沉淀。

有文献报道 pH 值和离子强度是两个影响蛋白质稳定的重要因素, 该研究表明在极酸或极碱以及低离子强度环境下可以诱导 M 蛋白沉淀[12], 最终干扰测定。而我们测量了 APTT、TT、PT 的试剂, 发现这些试剂的 pH 在 5.5 左右, 且与患者血清混合后最后反应体系的 pH 在 7.2 左右, 因此酸碱环境的变化在其中并没有起到关键作用, 结合分别向血清加入蒸馏水与生理盐水后出现的现象, 那么很有可能是低离子强度环境引起的 M 蛋白沉淀。虽然 APTT 及 PT 试剂中都含有 CaCl_2 , 但离子强度与离子种类、浓度等都有关系, 且不同的 M 蛋白具有不同的氨基酸序列, 这些氨基酸组成决定了蛋白质的等电点, 因此 pH 值和离子强度变化对它们的影响也不同。目前国内关于 M 蛋白对凝血功能检测的干扰较少报道, 而不同类型 M 蛋白对凝血功能检测的影响仍需我们进一步探讨。

目前大部分实验室的凝血仪检测方法都是光学法, 当向样品中加入凝血激活剂后, 仪器根据透射光强度的变化描绘成凝固曲线。凝固曲线很好地展示了凝固的过程, 因此在发现患者凝血结果异常或与临床表现不符时, 可先查看凝固曲线, 通过曲线判断检测过程是否存在异常。存在异常检测过程时也应采用手工法进行复测, 并与临床及时沟通, 避免影响患者的下一步诊治。

此外, 该患者稀释三倍后测得肌酐明显升高, 而尿素并未出现明显升高, 呈现分离状态, 另外对于肾脏损伤的敏感标志物胱抑素 C 为 0.6 mg/L, 采用胱抑素 C 公式[13]估算 GFR 得 eGFR 为 117.97 ml/min。结合患者并未出现水肿、蛋白尿、高血压等临床表现, 可能肌酐的数值也存在异常。进一步查看仪器反应曲线, 发现肌酐曲线变化方向与正常曲线相反, 起点浊度最高, 逐渐下降。本实验室检测肌酐采用的是肌氨酸氧化酶法, 而氧化酶法是在肌酐酶、肌氨酸氧化酶等催化作用下, 最终形成有色物质, 通过检测吸光度变化而得出肌酐含量。国外就有学者发现 1 例 IgM 型 MM 患者中出现的假性肌酐升高(46.8 mg/L), 推测很有可能是 M 蛋白沉淀导致反应浊度增加[14]。目前实验室可采用苦味酸法或者高效液相色谱法进行验证, 而本实验室缺乏这两种检测方法, 因为只能通过样本加入蒸馏水稀释沉淀后超速离心法去除 IgM。同时以白蛋白稀释超离心后浓度是否与稀释前形成的比例关系作为内对照, 证实了该方法的可行性。去除 IgM 后测得患者肌酐为 46 $\mu\text{mol/L}$, 通过肌酐计算得到 eGFR 为 113.4 ml/min, 证实了 M 蛋

白对肌酐检测的干扰。而肾功能与患者后续用药密切相关, 纠正假性升高的肌酐对临床后续治疗也非常重要。因此, 在日常检测中, 我们一定要保持高度警惕, 必要时可用不同方法进行检测来保证结果的准确性。

参考文献

- [1] Cook, L. and Macdonald, D.H.C. (2007) Management of Paraproteinaemia. *Postgraduate Medical Journal*, **83**, 217-223. <https://doi.org/10.1136/pgmj.2006.054627>
- [2] Sarkar, R. (2024) Paraprotein Interferences: Insights from a Short Study Involving Multiple Platforms and Multiple Measurands. *eJIFCC*, **35**, 120-131.
- [3] 周伟, 安倍莹, 刘睿博, 等. 常见内源性干扰物对凝血试验结果的影响分析[J]. 临床检验杂志, 2023, 41(1): 38-43.
- [4] Swerdlow, S.H., Campo, E., Pileri, S.A., Harris, N.L., Stein, H., Siebert, R., *et al.* (2016) The 2016 Revision of the World Health Organization Classification of Lymphoid Neoplasms. *Blood*, **127**, 2375-2390. <https://doi.org/10.1182/blood-2016-01-643569>
- [5] Sloop, G.D., Moore, C., Pop, G., Weidman, J.J. and St. Cyr, J.A. (2023) New Onset Anemia, Worsened Plasma Creatinine Concentration, and Hyperviscosity in a Patient with a Monoclonal IGM Paraprotein. *Cureus*, **15**, e41657. <https://doi.org/10.7759/cureus.41657>
- [6] King, R.I. and Florkowski, C.M. (2010) How Paraproteins Can Affect Laboratory Assays: Spurious Results and Biological Effects. *Pathology*, **42**, 397-401. <https://doi.org/10.3109/00313025.2010.493868>
- [7] 乔建启, 郭丽, 褚娜利, 等. 淋巴浆细胞淋巴瘤(华氏巨球蛋白血症)伴血钙假性增高 1 例[J]. 中国实验诊断学, 2022, 26(10): 1553-1555.
- [8] Ting, H.Y., Ting, I.P.L., Lo, S.C. and Loh, T.P. (2022) Falsely Low Serum Creatinine Caused by Immunoglobulin M Paraprotein Interference with Enzymatic Method. *Pathology*, **54**, 959-962. <https://doi.org/10.1016/j.pathol.2022.01.012>
- [9] Song, L., Tong, K.H. and Chin, C.D. (2019) Gelation of Monoclonal Protein Was the Cause of Interference with a Total Bilirubin Assay. *The Journal of Applied Laboratory Medicine*, **3**, 1054-1058. <https://doi.org/10.1373/jalm.2018.026575>
- [10] Tichy, M., Friedecky, B., Budina, M., Maisnar, V., Buchler, T., Holeckova, M., *et al.* (2009) Interference of IGM- Λ Paraprotein with Biuret-Type Assay for Total Serum Protein Quantification. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, **47**, 235-236. <https://doi.org/10.1515/ccmlm.2009.050>
- [11] Margetic, S., Celap, I., Dukic, L., Vukasovic, I. and Virovic-Jukic, L. (2016) Interference of M-Protein on Prothrombin Time Test—Case Report. *Biochemia Medica*, **26**, 248-254. <https://doi.org/10.11613/bm.2016.028>
- [12] Alberti, M.O., Drake, T.A. and Song, L. (2015) The pH of Chemistry Assays Plays an Important Role in Monoclonal Immunoglobulin Interferences. *Practical Laboratory Medicine*, **3**, 8-16. <https://doi.org/10.1016/j.plabm.2015.09.001>
- [13] 付帅, 徐丝, 杨敏, 等. 血清胱抑素 C 公式和肌酐公式对评估中国人肾小球滤过率精准度的比较[J]. 临床肾脏病杂志, 2020, 20(5): 351-356+384.
- [14] Mase, H., Hamano, N., Mizuhara, R., Nozaki, T., Saso, T., Wada, T., *et al.* (2020) Falsely Elevated Serum Creatinine Associated with IGM Paraproteinemia. *Kidney International Reports*, **5**, 377-381. <https://doi.org/10.1016/j.ekir.2019.11.017>