

• 案例分析 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2020.04.045

血 hCG 高剂量 HOOK 效应 1 例报道及文献复习

陈林坤,沈 稳,蔡雷鸣,侯 健,李 莉,厉 倩[△]

上海市第一人民医院宝山分院检验科,上海 200940

关键词:人绒毛膜促性腺激素; HOOK 效应; 化学发光免疫法

中图分类号:R446

文献标志码:C

文章编号:1672-9455(2020)04-0575-02

人绒毛膜促性腺激素(hCG)在生殖妊娠过程中发挥了重要作用^[1],主要是由合体滋养细胞分泌的一种糖蛋白,相对分子质量为 367×10^5 ,由 α 和 β 亚基组成,其 α 亚基与促甲状腺激素(TSH)、促黄体生成素(LH)等的 α 亚基几乎相同^[2],但 β 亚基羧基端最后的 24 个氨基酸片段为 hCG 所特有,故临床实验室多利用 β -hCG 的特异性抗体来测定血液或尿液中的 β -hCG,从而判定妊娠发生及异常情况^[3]。从结果判定上, β -hCG 的测定有定性和定量之分,但利用的都是免疫学抗原抗体反应。胶体金定性测定和化学发光免疫分析定量测定都存在假阳性或假阴性的风险,假阴性的重要原因之一就是钩状效应^[4]。

钩状效应(hook effect)又称 HOOK 效应,即前后带现象,是指免疫检测中由于抗原抗体浓度比例不合适,而导致检测结果呈假性低值,甚至假阴性的现象^[5]。当标本中待测抗原水平过高时,过量抗原分别和固相抗体及标记抗体结合,不再形成大量的双抗体夹心复合物,未与固相抗体结合的抗原及抗原标记抗体复合物会被洗去,所得检测结果将低于实际含量。HOOK 效应严重干扰了标本的正常测定结果,稍有不慎便会对患者的治疗方案产生灾难性的影响。笔者在工作中遇到 1 例没有仪器报警的因 HOOK 效应而引起的 β -hCG 化学发光免疫测定假性低值案例,现报道如下,并综述相关文献。

1 资料与方法

1.1 一般资料 患者,女,31 岁,因“停经 3 月,阴道流血伴恶心 1 月”入院,患者 6 月 14 日门诊查血 β -hCG 990 mIU/mL, B 超示:子宫增大,子宫 $161 \text{ mm} \times 86 \text{ mm} \times 127 \text{ mm}$,宫腔内充满混合性回声(葡萄胎? 流产?),双侧附件区囊性块,左附件无回声区 $41 \text{ mm} \times 24 \text{ mm}$ 。6 月 19 日门诊复查血 β -hCG 787 mIU/mL。6 月 20 日行 B 超监护下吸宫术,6 月 23 日复查血 β -hCG 210 000 mIU/mL,6 月 24 日复查血 β -hCG 110 000 mIU/mL。

1.2 检测方法 (1)仪器:贝克曼 UniCelDxI800 全自动化学发光免疫分析仪;(2)试剂:贝克曼 UniCelDxI800 仪器配套总 β -hCG 测定试剂盒(5th IS,批号:724671);(3)标准品:贝克曼 UniCelDxI800 仪器配套 β -hCG 定量检测标准品(批号:724143);(4)

质控品:英国朗道质控品,水平 2(批号:1646EC)。所用试剂及标准品均在有效期内新开瓶使用,开机质控在控,批量进行标本检测。

2 结果

如表 1 所示,患者在本次就诊过程中,共计检查血 β -hCG 4 次,2 次在门诊,2 次在住院。6 月 14 日首次检查血 β -hCG 990 mIU/mL,6 月 19 日第 2 次门诊复查血 β -hCG 787 mIU/mL,6 月 23 日吸宫术后第 3 次检查血 β -hCG 210 000 mIU/mL。此时医生联系检验科,告知检验结果与临床不一致。检验科接到反馈后,立即对 3 个标本进行了复查,在排除标本错误、仪器检测错误后,复查结果都与标本当日报告结果相符。由于该检测系统有 2 种检测模式,即原倍模式和稀释模式,仪器默认设定原倍模式检测,当原倍模式下检测结果大于线性范围上限 1 050 mIU/mL,仪器自动进行稀释模式检测,对标本进行 200 倍稀释后检测。尝试将 6 月 14 日和 6 月 19 日的血液标本进行稀释模式检测,结果发现 2 个结果都大于 270 000 mIU/mL。将两份标本手工稀释 10 倍,再进行稀释模式检测,检测结果依然显示大于 270 000 mIU/mL,这说明两份标本的实际 β -hCG 大于 270 000 mIU/mL。6 月 24 日复查血 β -hCG 110 000 mIU/mL,符合吸宫术后 β -hCG 下降的趋势。

表 1 患者 4 份血标本 β -hCG 检测情况

标本	标本日期	患者状态	血 β -hCG 检测值(mIU/mL)	
			稀释前	稀释后
第 1 份	6 月 14 日	吸宫术前、门诊	990	>270 000
第 2 份	6 月 19 日	吸宫术前、门诊	787	>270 000
第 3 份	6 月 23 日	吸宫术后第 3 天、住院	210 000	210 000
第 4 份	6 月 24 日	吸宫术后第 4 天、住院	110 000	110 000

3 讨论

由于 β -hCG 的检查对早期妊娠诊断有重要意义,对于妊娠相关疾病、滋养细胞肿瘤等疾病的诊断、鉴别和观察疗效具有重要意义。 β -hCG 结果的正确与否将直接影响临床诊断的正确性和治疗的及时性。在本例中,由于比较明显的临床症状和超声检查结果,门诊检查的 2 次 β -hCG 假性低值虽没有影响患者的入院诊断,但也给临床医生带来了极大困惑,这也

[△] 通信作者,E-mail:aqianmerry@yahoo.com.cn。

提示了临床与检验沟通的重要性。一方面,检验科没有患者的临床信息,无法判断结果与临床的符合性,另一方面,医生认为连续2次的门诊 β -hCG结果有一定的符合性,虽然心存疑惑,但也没有向检验科提出,本例高剂量 β -hCG引起的HOOK效应直到患者吸宫术后3d才被发现。

在正常妊娠过程中,血 β -hCG的水平范围为<250 000 mIU/mL^[6]。本例中检验科用的贝克曼化学发光免疫检测系统可以避免水平在1 000 000 mIU/mL之内的高剂量HOOK效应,这提示正常妊娠时血 β -hCG检测极少发生高剂量HOOK效应。但在妊娠滋养细胞疾病(GTD)中,血 β -hCG的水平可高达5 000 000 mIU/mL,而GTD在美国孕妇发病率为2/100 000,在国内发病率为200/100 000^[7],且各个检验科的 β -hCG检测系统发生HOOK效应的阈值各不相同^[8]。这提示虽然高剂量HOOK效应报告的风险偏低,但实验室仍应时刻警惕这方面的局限性,关注并验证本科室内检测系统HOOK效应的发生水平。国内外关于高剂量待检测物HOOK效应引起假阴性或假性低值时有报道^[9-11]。临床医生如能在怀疑患者发生GTD时,在检验申请单上提示该信息,也有助于临床实验室人员及早发现问题。

由于HOOK效应的发生具有不可预见性,避免HOOK效应一直是临床实验室人员较为棘手的问题。据文献报道,消除或减弱HOOK效应常用的有4种方法:(1)把一步法改为两步法;(2)往检测系统中加入更多的标记抗体;(3)标本稀释测定法;(4)计算机动态速率分析^[12-13]。在这4种方法中,(1)、(2)、(4)都涉及检测系统厂家,只有标本稀释测定法是临床实验室人员可以直接采用的最高效、简便的方法。除上述方法外,针对不同的检测物质,研究人员还设计了不同的程序用以识别HOOK效应。GAO等^[14]通过设计基于适体的三线侧向流生物传感器来识别过高的凝血酶引起的HOOK效应;REY等^[15]通过检测双抗体夹心免疫检测过程中抗原抗体反应动力学,增加了相关检测的可检测范围,有效降低了HOOK效应的影响,并用高水平C-反应蛋白(CRP)验证试验的可靠性,该文献同时认为该方法适用于其他物质的免疫检测。对于血 β -hCG的检测,本科室吸取本次案例的经验教训,经过讨论改进了工作流程:增加胶体金试纸条法进行初筛,初筛阳性的全部直接采用稀释模式检测,同时联系厂家将直接稀释模式没有结果的测试自动加测原倍测试,初筛阴性的标本全部手工选择仪器的原倍模式测试。该工作流程增加了手工和成本,但能较好地避免HOOK效应。

除了hCG检测会发生HOOK效应,实验室中用双位点免疫方法检测的项目,如垂体泌乳素^[12]、类风湿因子^[16]、肌红蛋白^[17]等,其发生高剂量HOOK效应的报道都有不少,实验室人员应高度重视临床反馈,关注每种检测方法的局限性,切实做好质量控制,成为真正的医生背后的“医生”。

参考文献

- [1] CHOI J, SMITZ J. Luteinizing hormone and human chorionic gonadotropin: origins of difference[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2014, 383(1/2): 203-213.
- [2] NWABUOBI C, ARLIER S, SCHATZ F, et al. HCG: biological functions and clinical applications[J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(10): E2037.
- [3] 谢幸, 苟文丽. 妇产科学[M]. 8版. 北京: 人民卫生出版社, 2013.
- [4] WILGEN U, PRETORIUS C J, GOUS R S. Hook effect in Abbott i-STAT β -human chorionic gonadotropin (β -hCG) point of care assay[J]. *Clin Biochem*, 2014, 47(13/14): 1320-1322.
- [5] 陈福祥, 陈广洁. 医学免疫学与免疫学检验[M]. 北京: 科学出版社, 2018.
- [6] COLE L A. Immunoassay of human chorionic gonadotropin, its free subunits, and metabolites [J]. *Clin Chem*, 1997, 43(12): 2233-2243.
- [7] SHAABAN A M, REZVANI M, HAROUN R R, et al. Gestational Trophoblastic Disease: Clinical and Imaging Features[J]. *Radiographics*, 2017, 37(2): 681-700.
- [8] AL-MAHDILI H A, JONES G R. High-dose hook effect in six automated human chorionic gonadotrophin assays [J]. *Ann Clin Biochem*, 2010, 47(Pt 4): 383-385.
- [9] CHEN J, CHEN K H, WANG L M. High-dose HOOK effect in urinary DeR2 assay in patients with chronic kidney disease [J]. *Clin Biochem*, 2018, 58: 32-36.
- [10] LOBO ANTUNES I, CURADO J, QUINTAS A, et al. Negative β hCG and molar pregnancy: the hook effect [J]. *Acta Med Port*, 2017, 30(9): 656-658.
- [11] CORMANO J, MACKAY G, HOLSCHNEIDER C. Gestational Trophoblastic Disease Diagnosis Delayed by the Hook Effect[J]. *Obstet Gynecol*, 2015, 126(4): 811-814.
- [12] AL SIFRI S N, RAEF H. The Hook effect in prolactin immunoassays[J]. *Saudi Med J*, 2004, 25(5): 656-659.
- [13] ROY R D, ROSEN MUND C, STEFAN M I. Cooperative binding mitigates the high-dose hook effect[J]. *BMC Syst Biol*, 2017, 11(1): 74-79.
- [14] GAO Y, ZHU Z, XI X, et al. An aptamer-based hook-effect-recognizable three-line lateral flow biosensor for rapid detection of thrombin [J]. *Biosens Bioelectron*, 2019, 133: 177-182.
- [15] REY E G, O'DELL D, MEHTA S, et al. Mitigating the hook effect in lateral flow sandwich immunoassays using real-time reaction kinetics[J]. *Anal Chem*, 2017, 89(9): 5095-5100.
- [16] 夏勇, 陈璇, 薛灏, 等. 类风湿因子在全自动生化分析仪上检测的钩状效应研究[J]. *检验医学与临床*, 2016, 13(11): 1512-1514.
- [17] KURT-MANGOLD M, DREES D, KRASOWSKI M D. Extremely high myoglobin plasma concentrations producing hook effect in a critically ill patient [J]. *Clin Chim Acta*, 2012, 414: 179-181.