

# Analytická interference může vést k diagnostice lymfoproliferativního onemocnění

## Analytical Interference Leading to a Diagnosis of Lymphoproliferative Disorder

Kurfürstová I.<sup>1</sup>, Šálek T.<sup>1</sup>, Kadlčková E.<sup>2</sup>, Pšenčík M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Oddělení klinické biochemie a farmakologie, Krajská nemocnice T. Bati, a. s.

<sup>2</sup> Hematologicko-transfuzní oddělení, Krajská nemocnice T. Bati, a. s.

### Souhrn

**Východiska:** Monoklonální imunoglobuliny (paraproteiny) jsou produkovány B lymfocyty při lymfoproliferativním onemocnění. Jsou charakteristické svou homogenní strukturou, v séru se mohou vyskytovat ve vysokých koncentracích a mohou být příčinou významné interference při laboratorních stanoveních. **Případ:** 84letý pacient byl hospitalizován na interním oddělení pro progresi dušnosti. V základním laboratorním vyšetření jsme zaznamenali vysoký konjugovaný bilirubin a nízký celkový bilirubin. Přímý sérový bilirubin byl měřen spektrofotometrickou metodou na principu diazoreakce. Důkladné došetření navzájem si odporujících výsledků vedlo k odhalení paraproteinu jako příčiny laboratorní interference, a tím k diagnostice maligního lymfoproliferativního onemocnění, které u pacienta do té doby nebylo známo. **Závěr:** Monoklonální imunoglobuliny jsou relativně vzácnou, ale o to klinicky závažnější, příčinou interference. Tato kazuistika ukazuje nutnost bdělého profesionálního přístupu při hodnocení laboratorních výsledků. Nečekaně vysoké, nízké či navzájem si odporující výsledky měření by měly vést ke zvážení přítomnosti monoklonálního imunoglobulinu a vyloučení jeho přítomnosti dalšími metodami (elektroforéza, imunofixace). Důsledkem těchto interferencí mohou být chyby v diagnostice a neadekvátní léčba. Na druhou stranu u pacientů, u nichž je známa přítomnost paraproteinu ve vyšších koncentracích, je nutno myslet na možné interference u rozličných biochemických stanovení a být obezřetný při poskytování péče opírající se o jejich hodnocení.

### Klíčová slova

paraproteiny – lymfoproliferativní onemocnění – bilirubin – interference

### Summary

**Background:** Monoclonal immunoglobulins (paraproteins) are produced by B lymphocytes in lymphoproliferative disorders. A single monoclonal immunoglobulin is homogeneous in terms of its structure, and it can occur in human serum at high concentration and cause significant interference in laboratory assays. **Case:** We present a case of an 84-year-old man who was admitted to the hospital for progression of dyspnea. Basic laboratory tests showed a serum concentration of conjugated bilirubin, measured using the diazo spectrophotometric method, which was much higher than that of total bilirubin. The cause of the discrepancy was attributed to analytical interference by monoclonal immunoglobulins, which helped establish a diagnosis of lymphoproliferative disorder. **Conclusion:** Monoclonal immunoglobulins are relatively rare in serum but are an important cause of analytical interference. Monoclonal immunoglobulins should always be considered a source of interference when unexpectedly high, low, or contradictory data are encountered, and appropriate confirmatory tests (electrophoresis, immunofixation) should be performed in such circumstances. Failure to do so can result in errors in diagnosis and inadequate treatment. Conversely, when samples contain abnormal and especially high monoclonal immunoglobulin levels, the biochemical data should be carefully examined for any discrepancies, such as paraprotein interference, and the results should be taken into consideration in patient management.

### Key words

paraproteins – lymphoproliferative disorders – bilirubin – interference

Autoři deklarují, že v souvislosti s předmětem studie nemají žádné komerční zájmy.

The authors declare they have no potential conflicts of interest concerning drugs, products, or services used in the study.

Redakční rada potvrzuje, že rukopis práce splnil ICMJE kritéria pro publikace zasílané do biomedicínských časopisů.

The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE recommendation for biomedical papers.



**MUDr. Irena Kurfürstová**  
Oddělení klinické biochemie  
a farmakologie  
Krajská nemocnice T. Bati, a. s.  
Havlíčkovo nábřeží 600  
762 75 Zlín  
e-mail: kurfurstova@bnzlin.cz

Obdrženo/Submitted: 22. 1. 2016

Přijato/Accepted: 1. 12. 2016

doi: 10.14735/amko201755

## Úvod

Monoklonální imunoglobuliny (paraproteiny) jsou produkovány B lymfocyty při lymfoproliferativním onemocnění. Jsou tvořeny kompletní molekulou imunoglobulinu nebo jejími fragmenty, které mohou polymerovat. Jsou charakteristické svou homogenní strukturou a funkčními vlastnostmi [1]. V séru se mohou vyskytovat ve vysokých koncentracích a mohou být příčinou významné interference při laboratorních stanoveních. V literatuře byly popsány interference s celou řadou rutinních metod, jako jsou stanovení celkového i konjugovaného bilirubinu [2], kreatininu [3], CRP [4], glukózy [5], kalcia [6], fosforu [7], železa [8,9], HDL cholesterolu [10] i hladin monitorovaných léčiv – gentamicinu [11], vankomycinu.

Důsledkem těchto interferencí mohou být chyby v diagnostice, neadekvátní

léčba a prodloužení hospitalizace se závažným dopadem na často těžce nemocného pacienta. Popisujeme případ, kdy odhalení interference při stanovení konjugovaného bilirubinu vedlo k diagnostice maligního lymfoproliferativního onemocnění.

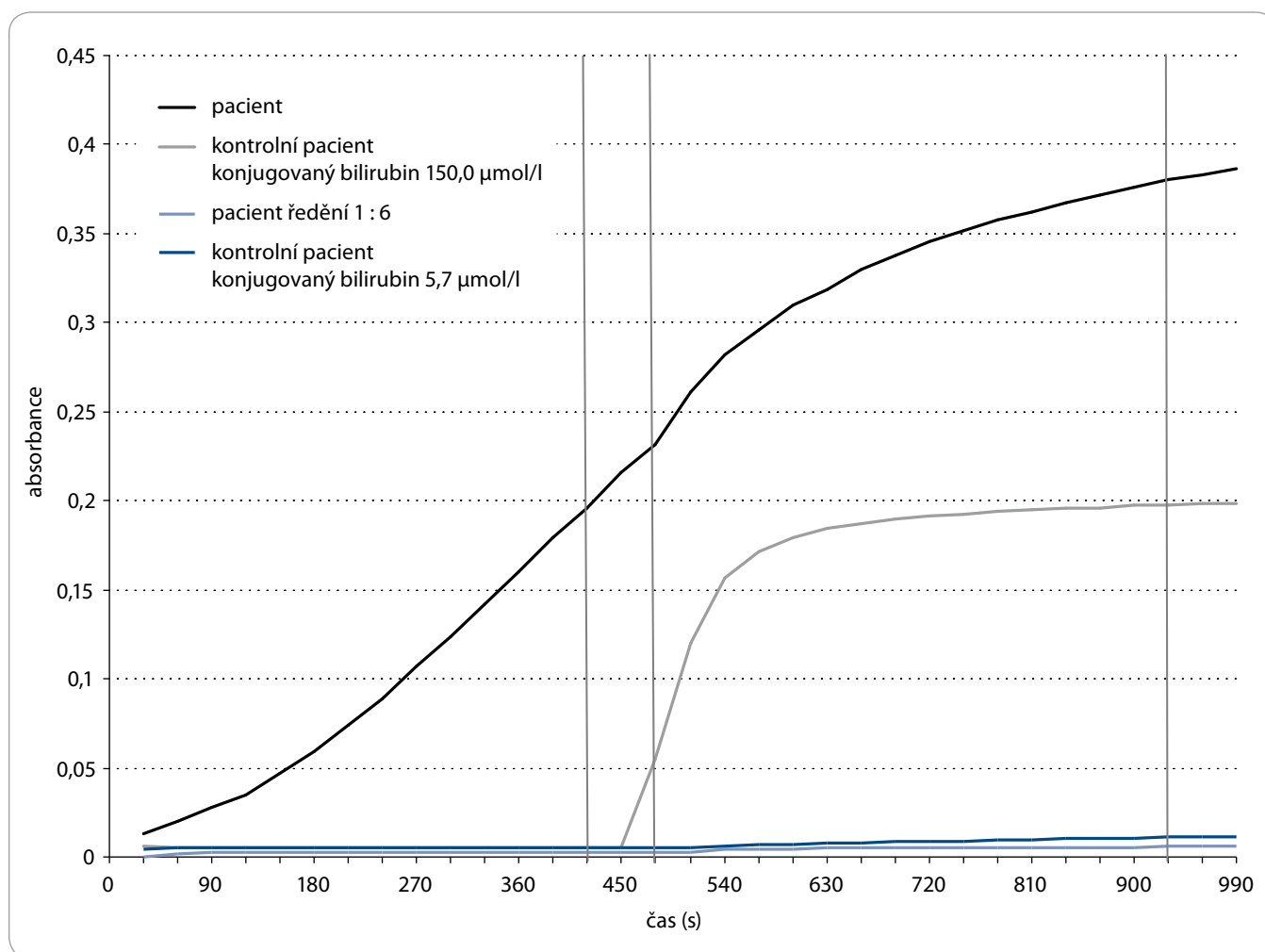
## Kazuistika

Pacient, 84 let, s anamnézou hepatopatie etylické etiologie Child A a refluxní ezofagitidy III. stupně byl hospitalizován na interním oddělení pro progresivní dušnost. Subjektivně asi rok pozoroval otoky dolních končetin a dušnost, která se poslední tři týdny zhoršila, stěžoval si na bolesti kloubů a kostí. Z farmak užíval lansoprazol a tiapridum. Při fyzikálním vyšetření byl pacient anikterický, s hepatomegalií +1, bez jiné patologie.

Laboratorně byla při přijetí zjištěna normocytární normochromní anémie

(hemoglobin 59 g/l, hematokrit 0,198), trombocytopenie (trombocyty  $96 \times 10^9/l$ ), diferenciální rozpočet byl v normě, porucha koagulace (Quickův test 61,7 %, INR 1,3), hyperazotemie (kreatinin 207  $\mu\text{mol/l}$ , urea 10,1 mmol/l, odhad glomerulární filtrace podle rovnice CKD EPI ze sérového kreatininu z roku 2009 0,41 ml/s/1,73m<sup>2</sup>), hraniční hyponatremie, ostatní ionty byly v normě (sodík 134 mmol/l, draslík 4,2 mmol/l, chloridy 107 mmol/l). Pro symptomatickou anémii byly pacientovi podány dvě erymasy.

Následující den v základním přijímacím souboru byly vyšetřeny ionty (sodík, draslík, chloridy, vápník, hořčík, fosfor), kreatinin, urea, glukóza, albumin a jaterní soubor vč. celkového a konjugovaného bilirubinu na analyzátoru Architect c8000 (Abbott). V naměřených hodnotách byl závažný rozdíl mezi cel-



Graf 1. Průběh reakčních křivek.

kovým bilirubinem 7  $\mu\text{mol/l}$  a konjugovaným bilirubinem 119,5  $\mu\text{mol/l}$ . Obě měření byla opakována na stejném stroji a následně i na analyzátoru Architect c4100 s obdobným výsledkem: bilirubin 6, resp. 7  $\mu\text{mol/l}$  a konjugovaný bilirubin 126,5, resp. 142,8  $\mu\text{mol/l}$ .

Konjugovaný bilirubin byl měřen spektrofotometrickou metodou na principu diazoreakce. V kyselém prostředí bilirubin reaguje s diazoniovou solí za vzniku azobilirubinu. Vzhledem k nulovému sérovému indexu ikterity (měření bilirubinu přímou spektrofotometrií, které je součástí zpracování každého vzorku krve v laboratoři klinické biochemie) u anikterického pacienta jsme usoudili, že se jedná o falešné zvýšení konjugovaného bilirubinu. Provedli jsme opakovaná měření konjugovaného bilirubinu ve zředěném séru. Výsledek 2,3  $\mu\text{mol/l}$  při ředění 1 : 6 a taktéž průběh reakčních křivek (graf 1) potvrdil, že se jedná o interferenci.

V příbalovém letáku konjugovaného bilirubinu od firmy Abbott jsme našli informaci, že „interference léků nebo endogenních látek může ovlivnit výsledky“. Vzhledem k farmakologické anamnéze jsme lékovou interferenci považovali za nepravděpodobnou. Jelikož v literatuře byly popsány interference paraproteinu při stanovení bilirubinu – celkového i konjugovaného – doplnili jsme stanovení celkové bílkoviny, jejíž výsledek 115,9 g/l nás jednoznačně utvrdil v podezření na monoklonální gamapati. Ve spolupráci s ošetřujícím lékařem jsme následující den doplnili vyšetření elektroforézy a imunofixace séra s nálezem paraproteinu IgM- $\kappa$  o koncentraci 52 g/l. Také v moči byl imunofixací prokázán paraprotein IgM- $\kappa$  o koncentraci 1,1 g/l.

S diagnózou maligního lymfoproliferativního onemocnění (diferenciálně diagnosticky mnohočetný myelom, morbus Waldenström) byl pacient k de-

finitivnímu upřesnění diagnózy a léčbě přeložen na vyšší pracoviště – Interní hematologickou a onkologickou kliniku FN Brno. V diferenciální diagnostice mezi těmito onemocněními hraje důležitou úlohu zobrazovací metody [12]. Po překlade však pacient zemřel do 48 hod na urosepsi bez možnosti bližšího došetření hematologického onemocnění.

### Diskuze

Kazuistika popisuje interferenci paraproteinu při stanovení konjugovaného bilirubinu.

V literatuře jsou popisovány interference při stanovení různých analytů u pacientů s již známou přítomností paraproteinu. V případě naší kazuistiky odhalení interference bylo prvním klíčovým krokem k diagnostice maligního lymfoproliferativního onemocnění.

Rozličné mechanismy jednotlivých interferencí lze obvykle vysvětlit precipitací při reakci vedoucí k falešnému zvýšení absorpance nebo specifickou vazbou paraproteinu na stanovovaný analyt nebo součástí reakčního setu. Tato vazba může neočekávaným způsobem ovlivňovat rozpustnost a reakční mechanismus některých stanovení [13]. Moderní analyzátoři jsou schopni zaznamenávat průběh kinetiky reakce, v definovaných bodech se měří změna absorpance za časovou jednotku. V našem případě namísto typické reakční křivky s pozvolným vzestupem úměrným koncentraci bilirubinu, začínajícím po přidání druhé reagentie, je patrné atypické rychlé zvyšování absorpance od počátku reakce. V ředěném vzorku (1 : 6) došlo k vymizení tohoto jevu. Ostatní analyty u pacienta nevykazovaly žádné odchylky.

### Závěr

Tato kazuistika ukazuje nutnost bdělého profesionálního přístupu při hodnocení laboratorních výsledků. V rámci diferenciální diagnostiky by měly nečekaně vy-

soké, nízké či navzájem si odporující výsledky měření vést ke zvážení přítomnosti monoklonálního imunoglobulinu, jako jejich relativně vzácné, ale o to klinicky závažnější příčiny.

A na druhou stranu u pacientů, u nichž je známa přítomnost paraproteinu ve vyšších koncentracích, je nutno myslet na možné interference u rozličných biochemických stanovení a být obezřetný při poskytování péče opírající se o jejich hodnocení.

### Literatura

1. Bakker AJ, Mücke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assays: mechanisms, detection and prevention. *Clin Chem Lab Med* 2007; 45(9): 1240–1243.
2. Dutta AK. A curious case of hyperbilirubinemia. *Indian J Clin Biochem* 2012; 27(2): 200–201. doi: 10.1007/s12291-011-0160-0.
3. Hummel KM, Ahsen von N, Kühn RB et al. Pseudohypercreatininemia due to positive interference in enzymatic creatinine measurements caused by monoclonal IgM in patients with Waldenström's macroglobulinemia. *Nephron* 2000; 86(2): 188–189.
4. Yu A, Pira U. False increase in serum C-reactive protein caused by monoclonal IgM- $\lambda$ : a case report. *Clin Chem Lab Med* 2001; 39(10): 983–987.
5. Dimeski G, Carter A. Rare IgM interference with Roche/Hitachi modular glucose and gamma-glutamyl-transferase methods in heparin samples. *Clin Chem* 2005; 51(11): 2202–2204.
6. John R, Oleesky D, Issa B et al. Pseudohypercalcaemia in two patients with IgM paraproteinaemia. *Ann Clin Biochem* 1997; 34(6): 694–696.
7. McCloskey EV, Galloway J, Morgan MA et al. Pseudohyperphosphataemia in multiple myeloma. *BMJ* 1989; 299(6712): 1381–1382.
8. Bakker AJ. Influence of monoclonal immunoglobulins in direct determinations of iron in serum. *Clin Chem* 1991; 37(5): 690–694.
9. Wu LC, Chuang SS, Lin CN et al. Multiple myeloma uncovered by investigating a negative serum iron level. *J Clin Pathol* 2007; 60(1): 110.
10. Yang Y, Howanitz PJ, Howanitz JH et al. Paraproteins are a common cause of interferences with automated chemistry methods. *Arch Pathol Lab Med* 2008; 132(2): 217–223.
11. Dimeski G, Bassett K, Brown N. Paraprotein interference with turbidimetric gentamicin assay. *Biochem Med (Zagreb)* 2015; 25(1): 117–124. doi: 10.11613/BM.2015.014.
12. Mysliveček M, Bačovský J, Ščudla V et al. 18F-FDG PET/CT v diagnostice mnohočetného myelomu a monoklonální gamapatie nejistého významu: srovnání s 99mTc-MIBI scintigrafií. *Klin Onkol* 2010; 23(5): 325–331.
13. Šolcová L, Friedecký B, Radocha J et al. Abnormální hyperbilirubinémie u pacientky s mnohočetným myelomem. *Klin Biochem Metab* 2008; 16(37): 202–203.