

# 外源性胰岛素对电化学发光免疫分析法检测胰岛素的影响\*

张 玫, 周 君, 杨礼丹, 桂雪梅, 黄 俊, 罗开宏, 黄亨建<sup>△</sup>

四川大学华西医院 实验医学科(成都 610041)

**【摘要】** 目的 探讨外源性胰岛素对电化学发光免疫分析法检测胰岛素的影响。方法 采用电化学发光免疫分析法测定血清胰岛素水平,根据美国临床实验室标准化协会标准文件 EP7-A2 的要求,采用配对差异实验分别评价 8 种外源性胰岛素对高、低浓度血清胰岛素测定的影响。如具有显著影响,用剂量效应实验评价确定外源性胰岛素浓度与干扰程度间的关系。结果 甘舒霖 N<sup>®</sup>、甘舒霖 R<sup>®</sup>、优泌林 R<sup>®</sup>、诺和灵 R<sup>®</sup>、来得时<sup>®</sup>在干扰浓度  $\leq 250 \mu\text{U}/\text{mL}$  时,对高、低浓度胰岛素测定的影响均为线性正干扰;诺和平<sup>®</sup>在干扰物浓度  $\leq 250 \mu\text{U}/\text{mL}$  时,对高浓度胰岛素的影响为线性负干扰,对低浓度胰岛素无干扰,优泌乐<sup>®</sup>和诺和锐<sup>®</sup>对胰岛素检测无干扰。结论 不同外源性胰岛素对电化学发光免疫分析法检测血清胰岛素的影响不同,临床上应注意由此导致的检测误差。

**【关键词】** 干扰试验 外源性胰岛素 电化学发光免疫分析法

**Interference of Exogenous Insulin on Insulin Detection Test by Electrochemiluminescence Immunoassay** ZHANG Mei, ZHOU Jun, YANG Li-dan, GUI Xue-mei, HUANG Jun, LUO Kai-hong, HUANG Heng-jian<sup>△</sup>. Department of Laboratory Medicine, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China

<sup>△</sup> Corresponding author, E-mail: huanghengjian@sina.com

**【Abstract】 Objective** To explore the interference of exogenous insulin therapy on insulin detection test by electrochemical luminescence immunoassay (ECLIA). **Methods** Insulin level was determined by ECLIA. According to the requirements of EP7-A2 of American Society for Clinical Laboratory Standards Institute Standards, paired difference experiment was conducted to evaluate the interference of 8 kinds of exogenous insulin on insulin detection, dose effect experiment was conducted to determine the relationship between exogenous insulin concentration and interference degree. **Results** When the interfering substance concentrations were  $\leq 250 \mu\text{U}/\text{mL}$ , Gansulin N<sup>®</sup>, Gansulin R<sup>®</sup>, Humulin R<sup>®</sup>, Novolin R<sup>®</sup> and Lantus<sup>®</sup> all showed linear positive interference, while Levemir<sup>®</sup> showed a linear negative interference in high concentrations insulin and non-interfering in low concentrations insulin, Humalog<sup>®</sup> and Novo Rapid<sup>®</sup> showed non-interference in insulin detection. **Conclusion** The use of different exogenous insulin may have different interference on insulin measurement, which need laboratorians and physicians notice to avoid misdiagnosis.

**【Key words】** Interference test Exogenous insulin Electrochemiluminescence immunoassay

血清胰岛素浓度的检测对低血糖原因调查、 $\beta$  细胞功能评价、胰岛素抵抗判断、胰岛素瘤的诊断和糖尿病的分型具有重要意义。目前,胰岛素多采用免疫法测定,利用了胰岛素特异性抗体和胰岛素的结合来进行检测,然而,胰岛素抗体与人工合成的人胰岛素以及胰岛素类似物存在交叉反应。据报道,不同的外源性胰岛素或类似物、不同检测方法、不同厂家试剂对胰岛素检测有不同的影响<sup>[1]</sup>。电化学发光免疫分析法(electrochemiluminescence immunoassay, ECLIA)为目前最常用的检测方法之一,外源性胰岛素对该方法检测胰岛素的干扰报

道不尽相同<sup>[2-3]</sup>。多数研究仅通过加入外源性胰岛素至低值血清(或胎牛血清)后检测其干扰,可能漏过在高浓度血清胰岛素水平上有意义的干扰。本研究采用美国临床实验室标准化协会(Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI)2005年发布的EP7-A2文件,较全面的评价临床常用的外源性胰岛素及胰岛素类似物对ECLIA测定胰岛素的干扰。

## 1 材料及方法

### 1.1 基础血清

收集无明显肝肾功能异常者的临床新鲜血清,且满足以下条件:胰岛素自身抗体(IAA)阴性;无溶血、黄疸、脂血;未使用过外源性胰岛素。分别收集

\* 国家自然科学基金青年项目(No. 81501800)和四川省科技厅项目(No. 2017SZ0063、No. 2014SZ0170)资助

<sup>△</sup>通信作者, E-mail: huanghengjian@sina.com

空腹和餐后两种状态的基础血清。该研究通过四川大学华西医院伦理委员会批准。

## 1.2 仪器和试剂

罗氏 E170 电化学发光免疫分析仪; 罗氏配套胰岛素试剂(检测范围为  $0.2 \sim 1\,000 \mu\text{U}/\text{mL}$ )。精密度和准确度均进行了评价, 仪器状态良好。

## 1.3 应用 CLSI EP7-A2 文件对胰岛素测定进行干扰评价<sup>[4]</sup>

### 1.3.1 配对差异试验

**1.3.1.1 基础样本** 收集满足 1.1 条件的餐后基础血清和空腹基础血清, 每 10 个餐后或空腹血清混合成 1 份, 共 16 份(高值 8 份, 低值 8 份)。将餐后和空腹血清分别混合均匀后, 制成高浓度基础样本(H)和低浓度基础样本(L), 每个干扰实验基础样本均为分别制备。

**1.3.1.2 干扰物** 精蛋白重组人胰岛素注射液(甘舒霖 N<sup>®</sup>, 通化东宝药业股份有限公司, 中国); 重组人胰岛素注射液(甘舒霖 R<sup>®</sup>, 通化东宝药业股份有限公司, 中国); 重组人胰岛素注射液(优泌林 R<sup>®</sup>, 礼来公司, 美国); 生物合成人胰岛素注射液(诺和灵 R<sup>®</sup>, 诺和诺德公司, 丹麦); 赖脯胰岛素注射液(优泌乐<sup>®</sup>, 礼来公司, 美国); 门冬胰岛素注射液(诺和锐<sup>®</sup>, 诺和诺德公司, 丹麦); 甘精胰岛素注射液(来得时<sup>®</sup>, 赛诺菲-安万特公司, 德国); 地特胰岛素注射液(诺和平<sup>®</sup>, 诺和诺德公司, 丹麦)。所有注射液规格均为  $300 \text{ U}/3 \text{ mL}$ 。

**1.3.1.3 对照样本** 同 1.3.1.1 中高浓度基础样本和低浓度基础样本。

**1.3.1.4 测试样本** 干扰物为商品化的胰岛素或类似物, 根据说明书中药代动力学的描述, 设置干扰物最高浓度为  $250 \mu\text{U}/\text{mL}$ (配置方法: 先用  $1 \mu\text{L}$  干扰物 +  $1\,000 \mu\text{L}$  基础样本配置成 ① 溶液, 再用  $1 \mu\text{L}$  ① +  $400 \mu\text{L}$  基础样本)。超线性范围采用罗氏通用稀释液进行稀释测定。由于干扰物体积仅占总体积的  $1/10^5$ , 因此本实验忽略干扰物体积。

**1.3.1.5 重测次数** 首先计算最大允许干扰值( $d_{\text{max}}$ )/批内标准差( $s$ )比值, 然后查  $d_{\text{max}}/s$  与重测次数对应表, 可得出胰岛素高、低浓度水平重复测定次数。 $d_{\text{max}}$  为各项目临床意义差别的标准。将胰岛素的  $d_{\text{max}}$  设定为  $58.8\%$ (根据生物学变异计算出的 RCV 值)。在  $6.9 \mu\text{U}/\text{mL}$ 、 $15 \mu\text{U}/\text{mL}$ 、 $75 \mu\text{U}/\text{mL}$ 、 $105 \mu\text{U}/\text{mL}$ 、 $210 \mu\text{U}/\text{mL}$  的变异系数(CV)分别为  $3\%$ 、 $3\%$ 、 $5\%$ 、 $3.5\%$ 、 $2\%$ , 根据表 1 计算, 本研究中的重复次数均为 3 次。

表 1  $d_{\text{max}}/s$  与重测次数对应表

Table 1 Corresponding table  $d_{\text{max}}/s$  and number of repetitions

$d_{\text{max}}/s$	No. of replicates	$d_{\text{max}}/s$	No. of replicates
0.8	41	1.5	12
1.0	26	1.6	10
1.1	22	1.8	8
1.2	18	2.0	7
1.3	16	2.5	5
1.4	14	3.0	3

**1.3.1.6 结果判断** 所得数据进行干扰效应的“估计”, 即  $d_{\text{obs}}$ (测试样本均值和对照样本均值之间的差值)与 cut-off 值  $d_c$ (接受假设的临界值)比较。如果  $|d_{\text{obs}}|$  小于或等于 cut-off 值  $d_c$ , 可得出某种物质引起的偏倚小于  $d_{\text{max}}$ ; 否则, 接受有效假设, 说明由该物质引起干扰的假设成立。通过公式  $d_c = (d_{\text{null}} + sZ_{1-\alpha/2})/n_{1/2}$  计算 cut-off 值  $d_c$ 。式中  $s$ : 批内标准差;  $n$ : 重测次数;  $d_{\text{null}}$ : 无效假设规定的值, 本研究中  $d_{\text{null}}$  设定 0;  $Z_{1-\alpha/2}$ : 正态分布双侧检验  $100(1-\alpha)\%$  的百分位值, 对于单侧检验, 用  $Z_{1-\alpha}$  取代  $Z_{1-\alpha/2}$ 。本文为单侧检验,  $\alpha = 0.05$ 。

### 1.3.2 干扰剂量效应试验

**1.3.2.1 基础样本和干扰物** 同 1.3.1.1 和 1.3.1.2。

**1.3.2.2 对照样本** 同配对差异试验中的对照样本。

**1.3.2.3 测试样本** 以  $250 \mu\text{U}/\text{mL}$  高浓度干扰样本和低浓度干扰样本, 按一定比例( $100\%L$ 、 $75\%L + 25\%H$ 、 $50\%L + 50\%H$ 、 $25\%L + 75\%H$ 、 $100\%H$ )混合而成, 形成终浓度为  $62.5 \mu\text{U}/\text{mL}$ 、 $125 \mu\text{U}/\text{mL}$ 、 $187.5 \mu\text{U}/\text{mL}$ 、 $250 \mu\text{U}/\text{mL}$  的干扰物。在同一分析批之内检测 5 个样本的浓度, 为了平均系统漂移影响, 升序及降序交叉测定, 计算低浓度样本的平均值。其他各组结果中减去该低浓度样本的平均值, 以净结果进行回归分析。超线性范围采用罗氏通用稀释液进行稀释测定。

**1.3.2.4 剂量效应分析** 如果数据随机分布, 成一条直线, 可用最小二乘法进行回归分析; 如各浓度水平的干扰不是线性函数, 则利用非线性二次多项式公式计算给定的干扰物浓度的干扰度。

## 2 结果

### 2.1 甘舒霖 N<sup>®</sup>和甘舒霖 R<sup>®</sup>对胰岛素测定的影响

加入  $250 \mu\text{U}/\text{mL}$  甘舒霖 N<sup>®</sup>, 低浓度基础血清的  $d_{\text{obs}}$  和  $d_c$  分别为  $477.59 \mu\text{U}/\text{mL}$  和  $0.19 \mu\text{U}/\text{mL}$  ( $|d_{\text{obs}}| > d_c$ ); 高浓度基础血清的  $d_{\text{obs}}$  和  $d_c$  分别为  $543.66 \mu\text{U}/\text{mL}$  和  $3.71 \mu\text{U}/\text{mL}$

( $|dobs| > dc$ ); 甘舒霖 N<sup>®</sup> 对胰岛素低、高浓度水平检测均为正干扰。干扰剂量效应结果见表 2, 干扰浓度  $\leq 250 \mu\text{U}/\text{mL}$  时, 对高、低浓度胰岛素测定可产生线性正干扰, 低、高浓度胰岛素干扰的线性方程分别为  $y=1.900x+2.903$ ,  $r=0.999996$ ,  $P=0.000$ ;  $y=2.1607x+0.84$ ,  $r=0.999$ ,  $P=0.000$ 。

加入  $250 \mu\text{U}/\text{mL}$  甘舒霖 R<sup>®</sup>, 低浓度基础血清的  $dobs$  和  $dc$  分别为  $5202.59 \mu\text{U}/\text{mL}$  和  $0.64 \mu\text{U}$

$/\text{mL}$  ( $|dobs| > dc$ ), 高值基础血清的  $dobs$  和  $dc$  分别为  $3889.45 \mu\text{U}/\text{mL}$  和  $3.90 \mu\text{U}/\text{mL}$  ( $|dobs| > dc$ ), 甘舒霖 R<sup>®</sup> 对胰岛素低、高浓度水平检测均为正干扰。干扰剂量效应结果见表 2, 干扰浓度  $\leq 250 \mu\text{U}/\text{mL}$  时, 对高、低浓度胰岛素测定可产生线性正干扰。低、高浓度胰岛素干扰的线性方程分别为  $y=20.365x+111.43$ ,  $r=0.999$ ,  $P=0.000$ ;  $y=15.43x+7.2833$ ,  $r=0.999$ ,  $P=0.000$ 。

表 2 甘舒霖 N<sup>®</sup> 和甘舒霖 R<sup>®</sup> 对胰岛素检测的干扰剂量效应/ $(\mu\text{U}/\text{mL})$

Table 2 The dose effect experiment of Gansulin N<sup>®</sup> and Gansulin R<sup>®</sup> on insulin detection/ $(\mu\text{U}/\text{mL})$

Interfering substance concentration/ $(\mu\text{U}/\text{mL})$	Gansulin N <sup>®</sup>		Gansulin R <sup>®</sup>	
	L	H	L	H
0	$6.68 \pm 0.14$	$78.11 \pm 1.06$	$22.74 \pm 0.42$	$205.55 \pm 0.75$
62.5	$127.93 \pm 2.43$	$215.43 \pm 2.04$	$1372.33 \pm 29.91$	$1181.00 \pm 15.87$
125.0	$247.57 \pm 1.69$	$348.80 \pm 8.50$	$2749.00 \pm 57.66$	$2158.67 \pm 20.23$
187.5	$366.17 \pm 1.72$	$480.27 \pm 3.04$	$3918.33 \pm 98.28$	$3060.67 \pm 21.73$
250.0	$484.27 \pm 4.12$	$621.77 \pm 5.49$	$5225.33 \pm 42.39$	$4095.00 \pm 31.43$

L: Basal insulin sample with low concentration; H: Basal insulin sample with high concentration

## 2.2 优泌乐<sup>®</sup>和优泌林 R<sup>®</sup>对胰岛素测定的影响

加入  $250 \mu\text{U}/\text{mL}$  优泌乐<sup>®</sup>, 低浓度基础血清胰岛素的  $dobs$  和  $dc$  值分别为  $-0.08 \mu\text{U}/\text{mL}$  和  $0.22 \mu\text{U}/\text{mL}$  ( $|dobs| < dc$ ); 高浓度基础血清胰岛素的  $dobs$  和  $dc$  分别为  $1.06 \mu\text{U}/\text{mL}$  和  $3.05 \mu\text{U}/\text{mL}$  ( $|dobs| < dc$ ); 优泌乐<sup>®</sup> 对高、低浓度胰岛素测定均无干扰。

加入  $250 \mu\text{U}/\text{mL}$  优泌林 R<sup>®</sup>, 低浓度基础血清胰岛素的  $dobs$  和  $dc$  分别为  $2965.81 \mu\text{U}/\text{mL}$  和

$0.17 \mu\text{U}/\text{mL}$  ( $|dobs| > dc$ ); 高浓度基础血清胰岛素的  $dobs$  和  $dc$  分别为  $4835.63 \mu\text{U}/\text{mL}$  和  $3.80 \mu\text{U}/\text{mL}$  ( $|dobs| > dc$ ); 表明优泌林 R<sup>®</sup> 对胰岛素低、高浓度水平检测均为正干扰。干扰剂量效应结果见表 3, 干扰浓度  $\leq 250 \mu\text{U}/\text{mL}$ , 对高、低浓度胰岛素测定可产生线性正干扰, 低、高浓度胰岛素干扰的线性方程分别为  $y=11.665x+150.84$ ,  $r=0.987$ ,  $P=0.013$ ;  $y=19.124x-43.437$ ,  $r=0.998$ ,  $P=0.002$ 。

表 3 优泌乐<sup>®</sup>和优泌林 R<sup>®</sup>对胰岛素检测的干扰剂量效应/ $(\mu\text{U}/\text{mL})$

Table 3 The dose effect experiment of Humalog<sup>®</sup> and Humulin R<sup>®</sup> on insulin detection/ $(\mu\text{U}/\text{mL})$

Interfering substance concentration/ $(\mu\text{U}/\text{mL})$	Humalog <sup>®</sup>		Humulin R <sup>®</sup>	
	L	H	L	H
0	$7.78 \pm 0.08$	$64.30 \pm 0.46$	$5.86 \pm 0.19$	$114.37 \pm 3.55$
62.5	—	—	$896.07 \pm 8.91$	$1340.33 \pm 9.61$
125	—	—	$1493.00 \pm 10.54$	$2410.00 \pm 22.52$
187.5	—	—	$2556.67 \pm 27.30$	$3533.67 \pm 38.81$
250	$7.70 \pm 0.04$	$65.36 \pm 0.41$	$2971.67 \pm 26.50$	$4950.00 \pm 44.68$

L: Basal insulin sample with low concentration; H: Basal insulin sample with high concentration

## 2.3 诺和锐<sup>®</sup>和诺和灵 R<sup>®</sup>对胰岛素测定的影响

加入  $250 \mu\text{U}/\text{mL}$  诺和锐<sup>®</sup>, 低浓度基础血清胰岛素的  $dobs$  和  $dc$  分别为  $-0.22 \mu\text{U}/\text{mL}$  和  $0.23 \mu\text{U}/\text{mL}$  ( $|dobs| < dc$ ); 高浓度基础血清胰岛素的  $dobs$  和  $dc$  分别为  $-0.83 \mu\text{U}/\text{mL}$  和  $3.25 \mu\text{U}/\text{mL}$  ( $|dobs| < dc$ ); 诺和锐<sup>®</sup> 对高、低浓度胰岛素测定均无干扰。加入  $250 \mu\text{U}/\text{mL}$  诺和灵 R<sup>®</sup>, 低浓度基础血清胰岛素的  $dobs$  和  $dc$  分别  $3948.43 \mu\text{U}/\text{mL}$  和  $0.16 \mu\text{U}/\text{mL}$  ( $|dobs| > dc$ ); 高浓度基础

血清胰岛素的  $dobs$  和  $dc$  分别为  $4835.63 \mu\text{U}/\text{mL}$  和  $3.62 \mu\text{U}/\text{mL}$  ( $|dobs| > dc$ ); 诺和灵 R<sup>®</sup> 对胰岛素低、高浓度水平检测均为正干扰。干扰剂量效应结果见表 4, 干扰浓度  $\leq 250 \mu\text{U}/\text{mL}$ , 对高、低浓度胰岛素测定可产生线性正干扰。低、高浓度胰岛素干扰的线性方程分别为  $y=15.89x-8.836$ ,  $r=0.999$ ,  $P=0.001$ ;  $y=14.42x-41.93$ ,  $r=0.999$ ,  $P=0.000$ 。

## 2.4 来得时<sup>®</sup>和诺和平<sup>®</sup>对胰岛素测定影响

表 4 诺和锐<sup>®</sup>和诺和灵 R<sup>®</sup>对胰岛素检测的干扰剂量效应/( $\mu\text{U}/\text{mL}$ )Table 4 The dose effect experiment of Aspart<sup>®</sup> and Novolin R<sup>®</sup> on insulin detection/( $\mu\text{U}/\text{mL}$ )

Interfering substance concentration/( $\mu\text{U}/\text{mL}$ )	NovoRapid <sup>®</sup>		Novolin R <sup>®</sup>	
	L	H	L	H
0	8.24±0.05	68.50±0.42	5.57±0.05	108.83±2.03
62.5	—	—	943.57±5.51	982.57±7.35
125	—	—	2060.33±25.50	1862.33±21.20
187.5	—	—	2962.33±28.50	2746.67±23.03
250	8.02±0.04	67.67±0.66	3954.00±36.17	3693.67±25.50

L: Basal insulin sample with low concentration; H: Basal insulin sample with high concentration

加入 250  $\mu\text{U}/\text{mL}$  来得时<sup>®</sup>, 低浓度基础血清胰岛素的  $dobs$  和  $dc$  分别为 216.65  $\mu\text{U}/\text{mL}$  和 0.32  $\mu\text{U}/\text{mL}$  ( $|dobs| > dc$ ); 高浓度基础血清胰岛素的  $dobs$  和  $dc$  分别为 134.73  $\mu\text{U}/\text{mL}$  和 3.58  $\mu\text{U}/\text{mL}$  ( $|dobs| > dc$ ); 来得时<sup>®</sup>对低、高浓度胰岛素检测都有正干扰。干扰剂量效应结果见表 5, 干扰浓度  $\leq 250 \mu\text{U}/\text{mL}$ , 对高、低浓度胰岛素测定可产生线性正干扰, 低、高浓度胰岛素干扰的线性方程分别为  $y = 0.834x + 12.02$ ,  $r = 0.997$ ,  $P =$

0.003,  $y = 0.5297x + 3.6$ ,  $r = 0.999$ ,  $P = 0.001$ 。

加入 250  $\mu\text{U}/\text{mL}$  诺和平<sup>®</sup>, 低浓度基础血清胰岛素的  $dobs$  和  $dc$  分别为  $-0.15 \mu\text{U}/\text{mL}$  和 0.20  $\mu\text{U}/\text{mL}$  ( $|dobs| < dc$ ); 高浓度基础血清胰岛素的  $dobs$  和  $dc$  分别为  $-6.84 \mu\text{U}/\text{mL}$  和 3.89  $\mu\text{U}/\text{mL}$  ( $|dobs| > dc$ ); 诺和平<sup>®</sup>对低浓度胰岛素无干扰, 对高浓度胰岛素检测有负干扰。高浓度胰岛素干扰的方程为  $y = -0.018x - 1.968$ ,  $r = -0.986$ ,  $P = 0.014$ 。

表 5 来得时<sup>®</sup>和诺和平<sup>®</sup>对胰岛素检测的干扰剂量效应/( $\mu\text{U}/\text{mL}$ )Table 5 The dose effect experiment of Lantus<sup>®</sup> and Levemir<sup>®</sup> on insulin detection/( $\mu\text{U}/\text{mL}$ )

Interfering substance concentration/( $\mu\text{U}/\text{mL}$ )	Lantus <sup>®</sup>		Levemir <sup>®</sup>	
	L	H	L	H
0	11.38±0.16	75.40±0.79	6.89±0.07	81.91±0.60
62.5	70.73±3.96	110.63±3.50	—	78.73±0.95
125	133.37±10.19	146.87±2.40	—	77.50±0.74
187.5	182.87±11.55	179.40±11.10	—	76.82±0.49
250	228.03±12.37	210.13±13.90	6.74±0.05	75.07±0.27

L: Basal insulin sample with low concentration; H: Basal insulin sample with high concentration

### 3 讨论

外源性胰岛素的使用在临床上十分的广泛, 同时也给胰岛素的检测带来挑战, 厂家说明书中仅引用了较早的文献, 提示 3 种胰岛素类似物对 ECLIA 不产生影响<sup>[1]</sup>。本研究显示, 甘舒霖 N<sup>®</sup>、甘舒霖 R<sup>®</sup>、诺和灵 R<sup>®</sup>、优泌林 R<sup>®</sup>、来得时<sup>®</sup>均对胰岛素检测有正干扰。诺和平<sup>®</sup>对高浓度胰岛素检测有负干扰, 而优泌乐<sup>®</sup>和诺和锐<sup>®</sup>对胰岛素的测定无影响。

人胰岛素具有的抗原决定簇, 其中一个在 B 链的 27~30 氨基酸之间<sup>[5]</sup>, 而另一个在 A 链的 8~10 氨基酸之间<sup>[6-7]</sup>。本研究纳入了 1 种中效和 3 种短效人胰岛素, 甘舒霖 N<sup>®</sup>、甘舒霖 R<sup>®</sup>、诺和灵 R<sup>®</sup>、优泌林 R<sup>®</sup>均对胰岛素检测有正干扰, 与之前的报道相似<sup>[8]</sup>, 本研究中甘舒霖 N<sup>®</sup> 回归曲线的斜率低于甘舒霖 R<sup>®</sup>, 提示中效胰岛素(甘舒霖 N<sup>®</sup>)较短效胰岛素(甘舒霖 R<sup>®</sup>)对胰岛素检测的干扰小。这可能由于中效胰岛素中添加了鱼精蛋白可通过其 N 末

端的多个碱性氨基酸与胰岛素形成络合物<sup>[9]</sup>, 进而影响与试剂中胰岛素抗体的结合, 使干扰程度变小。

本研究纳入了 4 种不同结构的胰岛素类似物。诺和锐<sup>®</sup>是将人胰岛素氨基酸 B 链 28 位的脯氨酸由天门冬氨酸替代, 而优泌乐<sup>®</sup>是将胰岛素 B 链上第 28 位和第 29 位氨基酸互换。研究显示优泌乐<sup>®</sup>和诺和锐<sup>®</sup>在罗氏 E170 系统上无干扰, 与本研究结果一致; 在 Advia Centaur 和 Immulite 2000 系统中则为正干扰<sup>[10]</sup>; 在 ARCHITECT i2000 系统上, 优泌乐<sup>®</sup>无干扰而诺和锐<sup>®</sup>存在正干扰<sup>[11]</sup>。

来得时<sup>®</sup>是 A 链上 21 位门冬氨酸被甘氨酸取代, B 链 C 端第 30 位苏氨酸加接 30a 和 30b 两个精氨酸分子形成, 来得时<sup>®</sup>注入皮下组织后, 酸性 ( $\text{pH}=4$ ) 被中和迅速降解成 M1(A 链上 21 位门冬氨酸被甘氨酸取代, B 链完整) 和 M2(B 链 C 端第 30 位苏氨酸加接 30a 和 30b 两个精氨酸分子)。M1 对胰岛素检测存在交叉反应, 而 M2 无交叉反

应<sup>[2]</sup>。本研究显示,来得时<sup>®</sup>对 ECLIA 检测胰岛素有正干扰,推测由于稀释后的来得时<sup>®</sup>pH 值发生变化,使部分来得时<sup>®</sup>降解为 M1 而被检测到。YOSHIDA 等<sup>[3]</sup>的研究中随机选取的患者血清为基础血清,显示来得时<sup>®</sup>对胰岛素无干扰。OWEN 等<sup>[1]</sup>研究采用胎牛血清为基础血清,显示来得时<sup>®</sup>对胰岛素检测无干扰。提示基础血清的不同可能导致不同的结果。

诺和平<sup>®</sup>在 B 链 29 位赖氨酸的  $\alpha$  位,以共价键连接了一个 14 碳的游离脂肪酸(肉豆蔻酸)侧链,并去掉第 30 位的苏氨酸残基。PARFITT 等<sup>[9]</sup>采用健康人的空腹血作为基础血清,在 43.2  $\mu\text{U}/\text{mL}$  和 144  $\mu\text{U}/\text{mL}$  干扰浓度下,诺和平<sup>®</sup>对 ECLIA 检测胰岛素无干扰。HEURTAULT 等<sup>[2]</sup>的研究采用了胎牛血清(胰岛素浓度接近 0  $\mu\text{U}/\text{mL}$ )作为基础血清,在 200 mU/L 干扰浓度下有 0.1% 的交叉反应。本研究采用人的高、低两个浓度的基础血清(IAA 阴性,无溶血、黄疸、脂血),更贴近临床检测的真实水平,不仅可检出正干扰,还可显示负干扰,结果发现诺和平<sup>®</sup>对高浓度基础血清为负干扰,对低浓度基础血清无干扰,提示诺和平<sup>®</sup>对胰岛素测定的影响与干扰物浓度和基础血清浓度有关。

本研究的不足在于外源胰岛素的评估均在体外进行,但这些胰岛素(类似物)在体内经过吸收、分布、代谢、排泄过程均可能改变测定中的交叉反应<sup>[12]</sup>。另外,由于外源性胰岛素制剂中可能含有的添加剂,对体外实验产生影响,而在体内的含量却很低,导致假性增高或降低。

目前的技术方法尚不能区分外源性胰岛素和内源性胰岛素,也无法对干扰进行消除或减免,不同类型的外源性胰岛素或类似物对 ECLIA 检测胰岛素的影响差异较大,提示临床医生在解读胰岛素报告时,应警惕不同外源性胰岛素(类似物)对胰岛素检测的影响。

## 参 考 文 献

[1] OWEN WE, ROBERTS WL. Cross-reactivity of three recombinant insulin analogs with five commercial insulin

immunoassays. *Clin Chem*, 2004, 50(1): 257-259.

- [2] HEURTAULT B, REIX N, MEYER N, *et al.* Extensive study of human insulin immunoassays: promises and pitfalls for insulin analogue detection and quantification. *Clin Chem Lab Med*, 2014, 52(3): 355-362.
- [3] YOSHIDA R, OHKUBO K, AKEHI Y, *et al.* Clinical application of the different cross-reactivities of anti-insulin antibodies to insulin lispro to evaluate endogenous insulin secretion. *Clin Chim Acta*, 2013, 415: 250-254.
- [4] Clinical and Laboratory Standards Institute. Interference testing in clinical chemistry. 2nd ed. EP7-A2, CLSI, 2005.
- [5] MARKS A, YIP C, WILSON S. Characterization of two epitopes on insulin using monoclonal antibodies. *Mol Immunol*, 1985, 22(3): 285-290.
- [6] SCHROER JA, BENDER T, FELDMANN RJ, *et al.* Mapping epitopes on the insulin molecule using monoclonal antibodies. *Eur J Immunol*, 1983, 13(9): 693-700.
- [7] ALLAUZEN S, JOLY S, GRANIER C, *et al.* Immunoanalysis of human insulin using monoclonal antibodies reveals antigenicity of evolutionarily conserved residues. *Mol Immunol*, 1995, 32(1): 27-36.
- [8] GLENN C, ARMSTON A. Cross-reactivity of 12 recombinant insulin preparations in the Beckman Unicel DxI 800 insulin assay. *Ann Clin Biochem*, 2010, 47(Pt 3): 264-266.
- [9] PARFITT C, CHURCH D, ARMSTON A, *et al.* Commercial insulin immunoassays fail to detect commonly prescribed insulin analogues. *Clin Biochem*, 2015, 48(18): 1354-1357.
- [10] DAYALDASANI A, RODRÍGUEZ ESPINOSA M, OCÓN SÁNCHEZ P, *et al.* Cross-reactivity of insulin analogues with three insulin assays. *Ann Clin Biochem*, 2015, 52(Pt 3): 312-318.
- [11] MORIYAMA M, HAYASHI N, OHYABU C, *et al.* performance evaluation and cross-reactivity from insulin analogs with the ARCHITECT insulin assay. *Clin Chem*, 2006, 52(7): 1423-1426.
- [12] BOLLI GB, HAHN AD, SCHMIDT R, *et al.* Plasma exposure to insulin glargine and its metabolites M1 and M2 after subcutaneous injection of therapeutic and suprathreshold doses of glargine in subjects with type 1 diabetes. *Diabetes Care*, 2012, 35(12): 2626-2630.

(2018-03-09 收稿, 2018-09-29 修回)

编辑 别明江