

# 基于生物素亲和素时间分辨荧光免疫法检测血清可溶性 fms 样酪氨酸激酶-1 的方法建立及性能评价

谭玉华<sup>1</sup>, 于婷<sup>2</sup>, 余海枷<sup>1</sup>, 李高成<sup>1</sup>, 冯健明<sup>1</sup> (1. 广州市丰华生物股份有限公司体外诊断试剂研发中心, 广州 510730; 2. 中国食品药品检定研究院体外诊断试剂检定所, 北京 100050)

**摘要:** **目的** 建立检测血清可溶性 fms 样酪氨酸激酶-1 (sFlt-1) 的生物素-亲和素时间分辨荧光免疫法 (BAS-TRFIA), 并对其性能进行评价。**方法** 利用链霉亲和素包被微孔板、生物素标记捕获 sFlt-1 单克隆抗体和钕标记检测 sFlt-1 单克隆抗体, 建立一种 BAS-TRFIA 定量测定孕妇血清中的 sFlt-1 浓度。对该方法的检测低限、生物检测限、功能灵敏度、精密度、线性、干扰试验和高剂量钩状效应等性能指标进行评价。选择 106 份孕周大于 9 周的无溶血、黄疸和脂血的孕妇血清剩余样本, 用于 BAS-TRFIA 和电化学发光法的比对研究, 比对试验结果的相关性采用线性回归分析。**结果** 该方法的样本最适反应时间为 90min, 检测低限为 1.00pg/ml, 生物检测限为 10.00pg/ml, 功能灵敏度为 10.00pg/ml, 批内和批间变异系数均在 5.00% 以内, 线性范围为 20.00 ~ 40 000.00pg/ml, 分别在低浓度和高浓度质控品中添加有干扰物的 17 种干扰样本与基础样本检测结果的相对偏倚在 -4.94% ~ 4.24% 内; 检测样品 sFlt-1 浓度高达 150 000pg/ml 时未出现高剂量钩状效应; 样本 sFlt-1 浓度在 105.40 ~ 40 972.00pg/ml 间, 与电化学发光法 (ECL) 检测结果的线性回归方程为  $Y=1.0867X+17.946$  ( $r=0.9944$ ,  $t=96.26$ ,  $P<0.05$ )。**结论** BAS-TRFIA 具有灵敏度高、精密度好、线性范围较宽和抗干扰能力强, 与参比方法检测结果的相关性良好等优点, 可以满足临床需要。

**关键词:** 生物素; 亲和素; 时间分辨荧光免疫法; 可溶性 fms 样酪氨酸激酶-1; 性能评价

**中图分类号:** R446 **文献标志码:** A **文章编号:** 1671-7414 (2025) 02-186-06

**doi:** 10.3969/j.issn.1671-7414.2025.02.035

## Establishment and Performance Evaluation of Method for Detecting Serum Soluble fms Like Tyrosine Kinase-1 Based on Biotin-avidin System Time-resolved Fluorescence Immunoassay

TAN Yuhua<sup>1</sup>, YU Ting<sup>2</sup>, YU Haijia<sup>1</sup>, LI Gaocheng<sup>1</sup>, FENG Jianming<sup>1</sup> (1. R & D Center of IVD Reagents, Guangzhou Fenghua Biotech Co.Ltd, Guangzhou 510730, China; 2. Institute for in Vitro Diagnostic Control, National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100050, China)

**Abstract:** **Objective** To establish a biotin-avidin system time-resolved fluorescence immunoassay (BAS-TRFIA) for detecting serum soluble fms-like tyrosine kinase-1 (sFlt-1) and evaluate its performance. **Methods** A BAS-TRFIA was established to quantitatively determine the concentration of sFlt-1 in the serum of pregnant women, which based on the microplate was coated with streptavidin. The monoclonal antibody to capture sFlt-1 was labeled by biotin, and the detection of sFlt-1 monoclonal antibody was labeled by europium. The performance indicators such as lower limit of detection, biological limit of detection, functional sensitivity, precision, linearity, interference test, cross-reaction test, and high dose hook effect of the method were evaluated. A total of 106 remaining serum samples from pregnant women with no hemolysis, jaundice and lipemia at more than 9 weeks were detected by BAS-TRFIA and electrochemiluminescence for methodological comparison study, and the correlation of the comparison test results was analyzed by linear regression. **Results** The optimal reaction time of the sample was 90 min. The lower limit of detection was 1.00pg/ml. The biological limit of detection was 10.00pg/ml, and the functional sensitivity was 10.00pg/ml. The intra-assay CV and inter-assay CV were both within 5%, and the linear range was 20.00 to 40 000.00pg/ml. The relative bias of the detection results of the 17 interfering samples with interfering substances added to the low-concentration and high-concentration quality controls and the basic samples was within -4.94% ~ 4.24%. The high dose hook effect was not found in sFlt-1 samples up to 150 000pg/ml. When the concentration of sFlt-1 in the sample was 105.40 ~ 40 972.00pg/ml, the linear regression equation of BAS-TRFIA and electrochemiluminescence (ECL) detection results was  $Y=1.0867X+17.946$  ( $r=0.9944$ ,

**作者简介:** 谭玉华 (1980-), 男, 医学硕士, 医疗器械高级工程师, 临床医学检验技师, 二级企业培训师, 三级健康管理师, 研究方向: 医疗器械 (含体外诊断试剂) 的研发、注册与应用, 临床医学检验和标准化研究, E-mail: tanywhy@aliyun.com。  
于婷 (1978-), 女, 博士, 研究员, 研究方向: 体外诊断试剂质量控制与评价、标准化研究以及标准物质研制, E-mail: yuting@nifdc.org.cn。并列第一作者。

$t=96.26, P < 0.05$ )。 **Conclusion** The quantitative detection of sFlt-1 by BAS-TRFIA has high sensitivity, good precision, wide linear range, strong anti-interference ability, and good correlation with the detection results of reference methods, which is valuable for clinical application.

**Keywords:** biotin; avidin; time-resolved fluorescence immunoassay; soluble fms-like tyrosine kinase-1; performance evaluation

可溶性 fms 样酪氨酸激酶 -1 (soluble fms-like tyrosine kinase-1, sFlt-1) 是一种具有酪氨酸激酶活性的糖蛋白。近年研究表明子痫前期孕妇胎盘分泌 sFlt-1 异常增多, 已成为子痫前期的重要发病因素<sup>[1]</sup>。sFlt-1 和胎盘生长因子 (placental growth factor, PIGF) 已成为监测子痫严重程度的新型血清标志物<sup>[2]</sup>, 联合检测 sFlt-1 与 PIGF 比值 (sFlt-1/PIGF) 也成为早期预测子痫前期的有效方法<sup>[3]</sup>。目前已报道检测 sFlt-1 的方法有酶联免疫吸附法 (ELISA)<sup>[4]</sup>、荧光免疫层析法 (GICA)<sup>[5]</sup> 和电化学发光法 (ECL)<sup>[2]</sup> 等, 但 ELISA 法存在酶标记物容易失活、灵敏度低、定量范围窄和高剂量钩状效应严重等缺陷; GICA 法存在灵敏度较低和精密度不高的缺点; 而 ECL 法为非开放系统, 试剂价格昂贵, 设备成本和维护费用较高。时间分辨荧光免疫法 (time-resolved fluoroimmunoassay, TRFIA) 是一种非放射性超微量分析的发光免疫法, 采用独特荧光特点的镧系元素标记技术、波长分辨技术、时间延迟技术和解离-增强技术, 具有荧光标记物的相对比活性高且稳定、灵敏度高 ( $10^{-18}$  mol/孔)、不受样品自然荧光干扰和易自动化等特点。因此本研究旨在建立一种基于生物素-亲和素系统 (biotin-avidin system, BAS) 的 TRFIA 定量检测血清 sFlt-1 的高灵敏度方法, 并对其分析性能进行评价, 现报道如下。

## 1 材料与方法

1.1 材料来源 106 份孕周大于 9 周的无溶血、黄疸和脂血的孕妇剩余血清样本用于方法学比对试验。样本均非本研究试验目的而专门采集的, 不涉及患者隐私信息, 对患者不存在因样本采集、检测对健康带来伤害, 不需要患者支付任何费用, 不需要进行其他专门的配合, 可视作对患者几乎无任何损害和潜在风险, 所有受检者在就诊时均已完成知情同意, 因此本研究不再提交伦理委员会审评及受试者知情同意书<sup>[6-7]</sup>。

1.2 仪器与试剂 捕获 sFlt-1 单克隆抗体、检测 sFlt-1 单克隆抗体和重组人 sFlt-1 蛋白 (广州诺煜辰生物科技有限公司); 链霉亲和素 (streptavidin, SA)、生物素、防腐剂 Proclin300 和截留分子量为 30 000 的超滤离心管 (美国 Merck 公司); 牛血清清蛋白 (安徽康源生物技术有限公司); 丙烯葡聚糖凝胶 Sephacry™ S-200 (美国 GE 公司); N1-(P-异硫氰基苄基)-二乙三胺四乙酸铈钠 (美国 Revvity 公司); 其他试剂为国产分析纯; 96 孔酶

标微孔板 (深圳市金灿华实业有限公司); sFlt-1 检测试剂盒 (电化学发光法) 及配套的 sFlt-1 定标液 (罗氏诊断公司)。增强液、浓缩洗液、实验缓冲液、样本稀释液、FWZ- I 型微量振荡器和 Auto-TRFIA-4 型全自动荧光免疫分析仪 (广州市丰华生物股份有限公司); 离心半径为 12 cm, 最高离心转速为 4 000 r/min 的 TDL-500C 型离心机 (山东百欧医疗科技有限公司)。

## 1.3 方法

### 1.3.1 BAS-TRFIA 检测血清 sFlt-1 方法的建立

1.3.1.1 校准品的制备: 重组人 sFlt-1 蛋白用含 50.0g/L 牛血清清蛋白的 50mmol/L, pH 7.80 三羟甲基氨基甲烷-盐酸溶液配制成校准品 A ~ F 和 2 个质控品溶液。校准品 A ~ F 浓度分别为 0, 20.40, 427.75, 2 072.05, 15 404.62 和 40 277.38pg/ml, 低浓度和高浓度质控品的靶值范围分别为 208.30 ~ 232.80pg/ml 和 21 656.10 ~ 24 363.31pg/ml。

1.3.1.2 微孔反应板的制备: 将 SA 用 10mmol/L, pH 4.5 磷酸盐缓冲液稀释至 3 μg/ml 作为包被液, 按照文献 [8] 的方法制作固相 SA 微孔反应板。

1.3.1.3 生物素化抗体的制备: 将 1mg 捕获 sFlt-1 单克隆抗体用 0.1mol/L, pH 8.0 的碳酸氢钠缓冲液稀释到 2mg/ml, 用 0.1mol/L, pH 8.0 的碳酸氢钠缓冲液透析 18h, 向透析后的抗体溶液中加入浓度为 1 mg/ml 的生物素 (用二甲基亚砷溶解) 100 μl, 并置于微量振荡器上 (1 150r/min) 室温振荡 3h, 然后向混合溶液中加入浓度为 1mol/L 的氯化铵溶液 2.4 μl, 在微量振荡器上 (1 150r/min) 室温振荡 10min。然后将混合溶液用 20mmol/L, pH 7.4 的磷酸盐缓冲液透析 18h, 得到 sFlt-1 生物素化抗体母液。生物素化抗体母液采用含有 2g/L 牛血清清蛋白的 20mmol/L, pH7.4 磷酸盐缓冲液, 按体积比 1 : 1 000 稀释成生物素化抗体工作液。

1.3.1.4 铈标记物的制备: 按照文献 [8] 的方法制作 sFlt-1 铈标记物母液。采用方阵滴定法, 铈标记物母液采用实验缓冲液按体积比 1 : 1 500 稀释成铈标记物工作液。

1.3.1.5 BAS-TRFIA 定量检测 sFlt-1 程序: 将浓缩洗液用纯化水按体积比 1 : 25 倍稀释成洗涤工作液。采用 AutoTRFIA-4 型全自动荧光免疫分析仪中的 sFlt-1 检测程序: 向微孔反应板的微孔中加入 100 μl 生物素化抗体工作液, 室温 (20 ~ 25℃)

下缓慢振荡孵育 20min, 用洗涤工作液洗涤微孔 2 次; 然后吸取 50 $\mu$ l 的校准品、质控品或待测样本依次加入微孔中, 同时向每孔中加入 100 $\mu$ l 的标记物工作液, 在室温下缓慢振荡孵育至最适样本反应时间, 然后用洗涤工作液洗涤微孔 6 次; 再向每孔中加入增强液 150 $\mu$ l, 于室温下缓慢振荡 5min 后, 使用判读仪检测荧光计数值 [单位: 计数/秒 (counts per second, CPs)], 并用配套的软件进行结果分析。样本最适反应时间确定: 按照以上方法检测校准品 A ~ F, 选择 60, 75, 90, 105 和 120min 作为反应时间, 选择荧光计数值趋于稳定的时间点为样本最适反应时间。

1.3.2 参比方法操作: 参比试剂为罗氏诊断公司的 sFlt-1 检测试剂盒 (电化学发光法), 采用 sFlt-1 定标液校准检测程序。严格按照说明书进行操作。

### 1.3.3 分析性能评价

1.3.3.1 剂量 - 反应曲线建立: 采用双对数 (Log/Log<sub>B</sub>) 数学模型, 三次样条插值 (spline) 函数拟合剂量 - 反应曲线, 相关系数 (correlation coefficient,  $r$ ) 应不低于 0.990 0。

1.3.3.2 分析灵敏度评价: 参照文献 [8] 的方法对 BAS-TRFIA 检测 sFlt-1 的检测下限 (lower limit of detection, LLD)、生物检测限 (biological limit of detection, BLD) 和功能灵敏度 (functional sensitivity, FS) 进行评价。

1.3.3.3 精密度评价: 同一个批次试剂平行检测低浓度和高浓度质控品各 10 次, 计算批内变异系数 ( $CV$ )。三个批次试剂分别平行检测低浓度和高浓度质控品各 10 次, 得到的 30 次结果计算批间  $CV$ 。批内和批间  $CV$  应分别不高于 8% 和 15%。

1.3.3.4 线性评价: 将高浓度样本采用样本稀释液稀释成 20.00, 400.00, 2 000.00, 15 000.00 和 40 000.00pg/ml 的样品, 对每一浓度的样品重复测定 2 次, 计算其平均值为实测浓度, 将实测浓度与理论浓度用最小二乘法进行线性拟合,  $r$  应不低于 0.990 0。

1.3.3.5 干扰试验: 在低浓度和高浓度的质控品中添加干扰物质至以下水平: 血红蛋白 (180g/L), 三酰甘油 (21.54mmol/L), 胆红素 (818 $\mu$ mol/L), 对乙酰氨基酚 (1 324 $\mu$ mol/L), 左旋抗坏血酸 (171 $\mu$ mol/L), 阿司匹林 (3.62mmol/L), 肝素钙 (5.0mmol/L), 99.5% 乙醇 [5%(v/v)], 叶酸 (1 400nmol/L), 庆大霉素 (21 $\mu$ mol/L), 人血清清蛋白 (60g/L), 异丁苯丙酸 (2 425 $\mu$ mol/L),  $\gamma$ -球蛋白 (45g/L), 类风湿因子 (1 000 IU/ml), 抗核抗体 (效价为 1 : 1 000), 人抗小鼠抗体 (125ng/ml) 和生物素 (3 500ng/ml)。添加有等体积空白溶剂的低浓度或高浓度质控品为基础样本。计算干

扰样本与基础样本检测结果的相对偏倚, 干扰率应在  $\pm 10\%$  以内。

1.3.3.6 高剂量钩状效应评价: 将重组人 sFlt-1 蛋白用样本稀释液稀释成理论浓度为 10, 20, 30, 40, 200, 900, 4 500, 22 500, 50 000, 60 000, 70 000, 80 000, 90 000, 150 000, 200 000, 115 000, 120 000, 125 000, 130 000, 140 000, 150 000, 160 000 和 200 000pg/ml 的样品, 检测其荧光计数值。如某一浓度的样品检测荧光计数值不再随浓度升高而升高, 即出现高剂量钩状效应。

1.3.3.7 方法学比对试验: 本研究方法与参比方法平行检测 106 份孕妇血清样本中的 sFlt-1 含量, 采用最小二乘法进行线性回归分析,  $r$  应不低于 0.975 0。

1.4 统计学分析 结果数据采用 Microsoft Excel 软件进行统计分析。计量资料以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示,  $CV=100\% \times s/x$ , 两种方法检测结果的相关性采用线性回归分析,  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

2.1 样本最适反应时间 在不同样本反应时间下, 校准品 A ~ F 的荧光计数值趋于稳定时的最适反应时间为 90min。

2.2 剂量反应曲线 见图 1。校准品 A ~ F 的浓度值和荧光计数值拟合得到的剂量 - 反应曲线的  $r$  达 0.999 0。

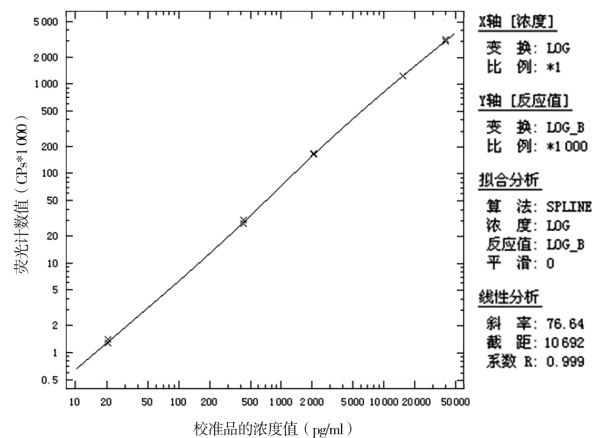


图 1 剂量反应曲线

2.3 灵敏度 见表 1。零浓度校准品 A 平行检测 12 次的空白荧光计数值 ( $\bar{x}_{\text{空白}} \pm s_{\text{空白}}$ ) 为  $709 \pm 18$  CPs, 95% 的可能性荧光值 ( $\bar{x}_{\text{空白}} + 2s_{\text{空白}}$ ) 为 745 CPs, 其在剂量 - 反应曲线上拟合得到的 LLD 为 1.00pg/ml。BLD 和 FS 均为 10.00pg/ml。

2.4 精密度 见表 2。低浓度和高浓度质控品的批内和批间  $CV$  均在 5.00% 以内。

2.5 线性 在 20.00 ~ 40 000.00pg/ml 内, 实测浓度与理论浓度的线性回归方程为  $Y=1.0028X+79.314$ ,  $r=0.9999$ 。

表 1 BLD 和 FS 计算结果

sFlt-1 (pg/ml)	$\bar{x}_{\text{净}}$ (CPs)	$s_{\text{检测限样品}}$ (CPs)	$\bar{x}_{\text{净}} - 3s_{\text{检测限样品}}$ (CPs)	CV (%)
1.25	202	234	-501	25.71
2.5	237	210	-393	22.2
5	505	264	-288	21.77
10	907	235	202	14.54
20	1 976	331	982	12.34
40	3 886	460	2 505	10.01

表 2 精密度评价结果 (pg/ml)

类别	批内			批间		
	$\bar{x}$	$s$	CV(%)	$\bar{x}$	$s$	CV(%)
低浓度	220.66	9.42	4.27	218.95	9.47	4.33
高浓度	22 705.52	730.43	3.22	22 853.08	761.74	3.33

2.6 抗干扰能力 见表3。分别在低浓度和高浓度质控品中添加有干扰物质的17种干扰样本，与基础样本结果的相对偏倚在-4.94%~4.24%内。

表 3 抗干扰能力评价结果 (pg/ml)

干扰物质	浓度	低浓度			高浓度		
		基础样本	干扰样本	干扰率 (%)	基础样本	干扰样本	干扰率 (%)
血红蛋白	180 g/L	219.45	222.01	1.17	23 007.69	23 006.51	-0.01
三酰甘油	21.54 mmol/L	220.52	217.31	-1.46	23 012.30	22 938.11	-0.32
胆红素	818 $\mu\text{mol/L}$	220.48	222.31	0.83	23 007.58	23 022.11	0.06
对乙酰氨基酚	1 324 $\mu\text{mol/L}$	220.08	209.21	-4.94	23 008.08	22 755.21	-1.10
左旋抗坏血酸	171 $\mu\text{mol/L}$	219.65	215.31	-1.98	23 002.00	22 445.81	-2.42
阿司匹林	3.62 mmol/L	219.55	213.81	-2.61	23 008.41	22 738.41	-1.17
肝素钙	5.0 mmol/L	220.50	220.11	-0.17	23 008.54	22 825.21	-0.80
99.5%乙醇	5%(v/v)	221.01	213.81	-3.26	23 006.79	22 205.01	-3.48
叶酸	1 400 nmol/L	219.57	215.71	-1.76	23 008.73	22 644.61	-1.58
庆大霉素	21 $\mu\text{mol/L}$	219.92	218.91	-0.46	23 013.78	23 053.41	0.17
人血清清蛋白	60 g/L	220.66	223.21	1.16	23 007.02	23 192.51	0.81
异丁苯丙酸	2 425 $\mu\text{mol/L}$	219.48	213.81	-2.58	23 005.49	22 575.71	-1.87
$\gamma$ -球蛋白	45 g/L	219.62	221.31	0.77	23 007.19	23 092.61	0.37
类风湿因子	1 000 IU/mL	219.95	224.31	1.98	23 007.83	23 425.51	1.82
抗核抗体效价	1:1 000	219.63	227.61	3.63	23 011.41	23 631.21	2.69
人抗小鼠抗体	125 ng/ml	219.22	228.51	4.24	23 004.62	23 307.41	1.32
生物素	3 500 ng/ml	220.34	219.45	-0.40	23 009.34	22 905.16	-0.45

2.7 高剂量钩状效应 当样本中 sFlt-1 检测浓度不超过 150 000 pg/ml 时，未表现出高剂量钩状效应。

2.8 方法学比对 见图2。在 105.40 ~ 40 972.00 pg/ml 内，与参比方法检测结果的线性回归方程为  $Y=1.086 7X+17.946$  ( $r=0.994 4, t=96.26, P < 0.05$ )。

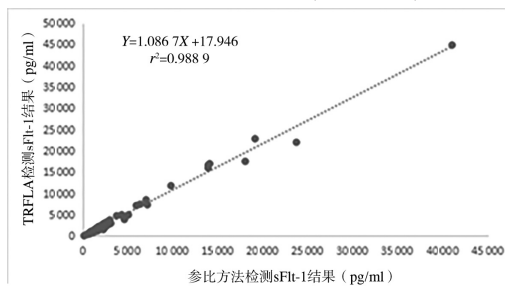


图 2 线性回归曲线

### 3 讨论

研究表明 sFlt-1 是血管内皮生长因子 (VEGF) 和 PIGF 的有效拮抗剂，子痫前期孕妇的 sFlt-1 水平上调，sFlt-1 结合 VEGF 和 PIGF 而使两者水平下降，且血液循环中过量的 sFlt-1 又负反馈于血液中的 VEGF 和 PIGF 分泌途径而使两者分泌减少；另外 sFlt-1 还可抑制 VEGF 和 PIGF 作用于细胞表面的特定受体，导致血管内皮功能紊乱，从而引起子痫前期相关的临床表现<sup>[1-2]</sup>。联合检测 sFlt-1、PIGF，sFlt-1/PIGF 比值能够帮助临床更快地预判孕妇患病的风险<sup>[9-10]</sup>，sFlt-1/PIGF 比值  $\leq 38$  时用于排除一周内的子痫前期，sFlt-1/PIGF 比值  $> 38$  时用于预测四周内的子痫前期<sup>[11]</sup>，因此 sFlt-1 已成为子

痫前期临床辅助诊断实用的预警指标之一。

基于BAS的技术已在体外诊断检测领域得到广泛应用,其为利用1分子亲和素可以结合4分子生物素的级联放大技术,亲和素与生物素反应高度专一,两者一经结合就极其稳定,现多采用生物素-链霉亲和素系统,可增加固相载体上抗体/抗原的结合数量,并减少空间位阻效应,能牢固结合更多的抗原/抗体,具有灵敏度高、稳定性好和检测范围宽的特点<sup>[12]</sup>。本研究基于BAS-TRFIA检测血清sFlt-1,其检测下限(1.00 pg/ml)优于荧光免疫层析法的检测下限(12 pg/ml)<sup>[5]</sup>和磁性微粒TRFIA的检测下限(10.78 pg/ml)<sup>[13]</sup>,其功能灵敏度(10.00 pg/ml)优于参比方法说明书上声称的功能灵敏度(15.00 pg/ml);其剂量-反应曲线检测范围(0~40 000.00 pg/ml)宽于文献[13]报道的检测范围(0~25 000 pg/ml);其线性范围下限(20.00 pg/ml)明显低于荧光免疫层析法检测sFlt-1的线性范围下限(40.00 pg/ml)<sup>[5]</sup>,但线性范围上限(40 000.00 pg/ml)窄于荧光免疫层析法的线性范围上限(8 5000 pg/ml)<sup>[5]</sup>,可能与两者的方法学原理和加样体积不同有关,仍需进一步研究与探讨。

缘于外源生物素对BAS化学发光技术的干扰以及不良事件的不断报道,美国食品和药品管理局(FDA)先后发布警示信息以及相关指南对生物素干扰进行监管<sup>[14-16]</sup>,并建议将需要研究的生物素最高浓度设定到3 500 ng/ml<sup>[14]</sup>。本研究结果显示,17种干扰物质(常见内源性干扰物、治疗药物或营养物、摄入物和异嗜性抗体等)对sFlt-1检测结果的干扰率均在±10%以内,表明已达到常规方法抗干扰能力<sup>[8]</sup>。3 500 ng/ml的生物素对本研究检测结果未产生明显影响,这与反应模式和检测平台有关<sup>[12]</sup>,本研究的微孔反应板中包被的SA在样本加入前,先与生物素化抗体进行了高亲和力结合,从而避免了样本中高剂量生物素竞争结合SA而对检测结果的影响。

既往研究表明正常孕妇在孕早期至孕中期的血清中sFlt-1浓度较为平稳,之后开始逐渐升高,至足月妊娠达到高峰<sup>[17]</sup>,而子痫前期孕妇血清中sFlt-1水平可达 $13\ 010.43 \pm 2\ 321.84$  pg/ml,健康孕妇对照组血清中sFlt-1为 $2\ 160.74 \pm 432.18$  pg/ml<sup>[18]</sup>。本研究结果显示其线性范围达20~40 000.00 pg/ml,且未出现高剂量钩状效应的sFlt-1水平达150 000 pg/ml,已能满足临床高值样本检测需要。目前临床sFlt-1检测主要采用罗氏诊断公司的试剂盒,但试剂和设备昂贵,普及率不高<sup>[13]</sup>。本研究方法与参比方法检测结果的 $r$ 达0.994 4( $t=96.26$ , $P < 0.05$ ),表明两种方法学间检测结果具有良好的相关性。

综上所述,本研究方法定量检测sFlt-1具有灵

敏度高、精密度好、线性范围较宽、抗干扰能力强、特异度好、检测范围宽,与参比方法检测结果的相关性良好,可以满足临床需要。

#### 参考文献:

- [1] 高尚,程蔚蔚.子痫前期sFlt-1相关治疗的研究进展[J].实用妇产科杂志,2021,37(2):105-108.  
GAO Shang, CHENG Weiwei. Research progress of sFlt-1 related treatment for preeclampsia[J]. Journal of Practical Obstetrics and Gynecology, 2021, 37(2): 105-108.
- [2] 赵晟隆,刘晓巍,王建东,等.血清中可溶性fms样酪氨酸激酶-1和胎盘生长因子与子痫前期严重程度的相关性[J].医学综述,2020,26(24):4988-4992.  
ZHAO Shenglong, LIU Xiaowei, WANG Jiandong, et al. Correlation of soluble fms-like tyrosine kinase-1 and placental growth factor with severity of preeclampsia[J]. Medical Recapitulate, 2020, 26(24): 4988-4992.
- [3] 林楠,陈慧,吴小盈,等.可溶性fms样酪氨酸激酶1与胎盘生长因子的比值用于前瞻性预测子痫前期的荟萃分析[J].中华高血压杂志,2019,27(5):443-447.  
LIN Nan, CHEN Hui, WU Xiaoying, et al. Clinical significance of ratio of soluble fms-like tyrosine kinase-1 and placenta growth factor to prospectively predict preeclampsia: a meta-analysis[J]. Chinese Journal of Hypertension, 2019, 27(5): 443-447.
- [4] 王锦生,徐红波,王维钢.可溶性fms样酪氨酸激酶对急性胰腺炎的早期诊断及严重程度评估的价值[J].浙江医学,2018,40(18):2034-2037.  
WANG Jinsheng, XU Hongbo, WANG Weigang. Diagnostic value of soluble fms-like tyrosine kinase in acute pancreatitis[J]. Zhejiang Medical Journal, 2018, 40(18): 2034-2037.
- [5] 苏倩,管世鹤,张好,等.可溶性fms样酪氨酸激酶-1荧光免疫层析法检测的临床性能评估[J].国际检验医学杂志,2019,40(18):2230-2233.  
SU Qian, GUAN Shihe, ZHANG Yu, et al. Performance evaluation of soluble fms-like tyrosine kinase receptor-1 assay by fluorescence-based lateral flow[J]. International Journal of Laboratory Medicine, 2019, 40(18): 2230-2233.
- [6] 田刚,丁俊杰,刘靳波,等.两种检测系统测定血清肌红蛋白、肌酸激酶同工酶-MB及心肌肌钙蛋白I的比较实验研究[J].中外医学研究,2019,17(16):68-70.  
TIAN Gang, DING Junjie, LIU Jinbo, et al. Comparison of two test systems for serum myoglobin, creatine kinase-MB and cardiac troponin I detection[J]. Chinese and Foreign Medical Research, 2019, 17(16): 68-70.
- [7] 周伶俐,魏力强.临床实验室应用不同检测系统检测血清心肌肌钙蛋白I结果的一致性分析研究[J].现代检验医学杂志,2022,37(2):137-141, 161.  
ZHOU Lingli, WEI Liqiang. Consistency analysis of serum cardiac troponin I with different detection systems in clinical laboratory[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2022, 37(2): 137-141, 161.

(下转第201页)

- [15] 李敏, 寿玮龄, 范连凯, 等. 一期凝固法凝血因子Ⅷ活性检测医学决定水平的性能验证 [J]. 标记免疫分析与临床, 2022, 29(6): 1015-1020.  
LI Min, SHOU Weiling, FAN Liankai, et al. The validation of medical determination level of coagulation factor Ⅷ activity by one-stage coagulation method[J]. Labeled Immunoassays and Clinical Medicine, 2022, 29(6): 1015-1020.
- [16] Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of detection capability for clinical laboratory measurement procedures; approved guideline-Second edition [S]. Wayne: PA, CLSI EP17-A2, 2012.
- [17] Clinical and Laboratory Standards Institute. User verification of precision and estimation of bias; approved guideline-Third edition [S]. Wayne: PA, CLSI EP15-A3, 2014.
- [18] GOMEZ-RIOJA R, VON MEYER A, CORNES M, et al. Recommendation for the design of stability studies on clinical specimens[J]. Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, 2023, 61(10): 1708-1718.
- [19] Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of stability of in vitro medical laboratory test reagents-Second edition [S]. Wayne: PA, CLSI EP25, 2023.
- [20] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. WS/T 514-2017: 临床检验方法检出能力的确立和验证 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.  
National Health and Family Planning Commission of the People's Republic of China. WS/T 514-2017: Establishment and verification of detection capability for clinical laboratory measurement procedures [S]. Beijing: China Standard Publishing House, 2017.
- [21] Sysmex CN-3000 and CN-6000 application guide. Fully Automated Coagulation Analysers CN-3000/CN-6000 [Z]. (2019-02) [http:// www.sysmex-ap.com](http://www.sysmex-ap.com) 2019; 2  
收稿日期: 2024-11-12  
修回日期: 2024-12-17

## (上接第190页)

- [8] 谭玉华, 曹春玲, 张润锋, 等. 时间分辨荧光免疫法检测胎盘生长因子的方法建立及性能评价 [J]. 现代检验医学杂志, 2023, 38(1): 112-116, 146.  
TAN Yuhua, CAO Chunling, ZHANG Runfeng, et al. Establishment and performance evaluation of a time-resolved fluorescence immunoassay for the detection of placental growth factor[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2023, 38(1): 112-116, 146.
- [9] 赵红, 杨晓彦. 可溶性 fms 样酪氨酸激酶 -1 及胎盘生长因子与子痫前期关系的研究进展 [J]. 内蒙古医学杂志, 2022, 54(8): 941-943.  
ZHAO Hong, YANG Xiaoyan. Research progress on the relationship between soluble Fms -like tyrosine kinase -1 and placental growth factor and preeclampsia[J]. Inner Mongolia Medical Journal, 2022, 54(8): 941-943.
- [10] STEPAN H, GALINDO A, HUND M, et al. Clinical utility of sFlt-1 and PlGF in screening, prediction, diagnosis and monitoring of pre-eclampsia and fetal growth restriction[J]. Ultrasound in Obstetrics Gynecology, 2023, 61(2): 168-180.
- [11] National Institute for Health and Care Excellence. PlGF-based testing to help diagnose suspected pre-eclampsia (Triage PlGF test, Elecsys immunoassay sFlt-1/PlGF ratio, DELFIA Xpress PlGF 1-2-3 test, and BRAHMS sFlt-1 Kryptor/BRAHMS PlGF plus Kryptor PE ratio) [EB/OL]. (2016-05-11) <https://www.nice.org.uk/guidance/dg23>.
- [12] 刘栋, 仝慧, 陈斌, 等. 外源性生物素对基于生物素-链霉亲和素化学发光技术干扰的研究进展 [J]. 现代检验医学杂志, 2021, 36(3): 161-164.  
LIU Dong, TONG Hui, CHEN Bin, et al. Research progress of exogenous biotin interference on chemiluminescence immunoassay based on biotin-avidin system[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2021, 36(3): 161-164.
- [13] 吴鸿峰, 邓昊, 翁孔燕, 等. 可溶性 fms 样酪氨酸激酶 1 时间分辨荧光免疫分析法的建立 [J]. 现代免疫学, 2022, 42(5): 375-380.  
WU Hongfeng, DENG Hao, WENG Kongyan, et al. Establishment of time-resolved fluoroimmunoassay for soluble fms-like tyrosine kinase 1 [J]. Current Immunology, 2022, 42(5): 375-380.
- [14] U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Biologics Evaluation and Research, et al. Testing for biotin interference in in vitro diagnostic devices[EB/OL]. (2020-10-16) <https://www.fda.gov/media/127915/download>.
- [15] Food and Drug Administration. Biotin interference with troponin lab tests - assays subject to biotin interference[EB/OL]. (2022-06-21) <https://www.fda.gov/medical-devices/in-vitro-diagnostics/biotin-interference-troponin-lab-tests-assays-subject-biotin-interference>.
- [16] Food and Drug Administration.UPDATE: The FDA warns that biotin may interfere with lab tests: FDA safety communication[EB/OL]. (2019-06-10) <https://www.fda.gov/medical-devices/safety-communications/update-fda-warns-biotin-may-interfere-lab-tests-fda-safety-communication>.
- [17] LEVINE R J, MAYNARD S E, QIAN Cong, et al. Circulating angiogenic factors and the risk of preeclampsia[J]. the New England Journal of Medicine, 2004, 350(7): 672-683.
- [18] 曾燕飞, 杨仪心, 周玢莹. 可溶性 fms 样酪氨酸激酶 1 与胎盘生长因子的比率对疑似子痫前期妇女的预测价值分析 [J]. 世界最新医学信息文摘 (电子版), 2020, 20(19): 190, 192.  
ZENG Yanfei, YANG Yixin, ZHOU Binying. Predictive value of the ratio of soluble fms-like tyrosine kinase 1 to placental growth factor in women with suspected preeclampsia[J]. World Latest Medicine Information, 2020, 20(19): 190, 192.  
收稿日期: 2024-04-01  
修回日期: 2024-05-30