

血清 25-羟基维生素 D₃ 检测操作指南
同位素稀释液相色谱串联质谱法

Operating guidelines for measurement of serum 25-hydroxyvitamin D₃—
Isotope dilution liquid chromatography tandem mass spectrometry

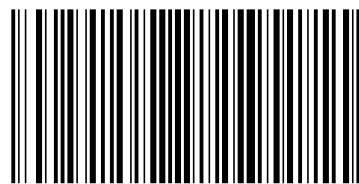
中华人民共和国卫生
行业标准
血清 25-羟基维生素 D₃ 检测操作指南
同位素稀释液相色谱串联质谱法
WS/T 478—2015

*
中国标准出版社出版发行
北京市朝阳区和平里西街甲 2 号(100029)
北京市西城区三里河北街 16 号(100045)
网址 www.spc.net.cn
总编室:(010)68533533 发行中心:(010)51780238
读者服务部:(010)68523946
中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷
各地新华书店经销

*
开本 880×1230 1/16 印张 1 字数 24 千字
2015 年 11 月第一版 2015 年 11 月第一次印刷

*
书号: 155066·2-29087 定价 18.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换
版权专有 侵权必究
举报电话:(010)68510107



WS/T 478—2015

2015-11-06 发布

2016-05-01 实施

中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会 发布

参 考 文 献

[1] Susan S.-C.Tai, Mary Bedner, Karen W. Phinney. Development of a Candidate Reference Measurement Procedure for the Determination of 25-Hydroxyvitamin D₃ and 25-Hydroxyvitamin D₂ in Human Serum Using Isotope—Dilution Liquid Chromatography—Tandem Mass Spectrometry. Anal. Chem.2010,82,1942-1948.

[2] Stepman HC, Vanderroost A, van Uytfanghe K, et al. Candidate reference measurement procedures for serum 25-hydroxyvitamin D₃ and 25-hydroxyvitamin D₂ by using isotope-dilution liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J].Clin Chem,2011,57(3):441-448.

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准起草单位:首都医科大学附属北京世纪坛医院、中国医学科学院北京协和医院、北京医院。

本标准主要起草人:张曼、周慧、邱玲、韩建华、张传宝、张江涛。

9.4.3 液相色谱串联质谱检测

按照以下步骤进行液相色谱串联质谱检测：

- a) 按照 9.3 方法对标准品工作液和待测血清样本进行前处理,按照 9.4.1~9.4.2 条件进行液相色谱串联质谱参数设置和优化；
- b) 标准品工作液经前处理后,按照浓度由低到高顺序进行液相色谱串联质谱分析；
- c) 待测血清样本进行前处理后,进行液相色谱串联质谱分析。

9.4.4 结果计算

9.4.4.1 保留时间

25(OH)VD₃ 在液相色谱中保留时间可依使用的色谱柱性能不同而有差异,建议与标准品溶液保留时间差值小于 0.1 min。

9.4.4.2 工作曲线的建立

9.4.4.2.1 直线拟合

对 25(OH)VD₃ 和同位素标记 25(OH)VD₃ 按表 2 分别提取 MRM 离子色谱图,积分得各自的峰面积。以标准品定量离子峰面积与内标峰面积的比值为纵坐标,以标准品浓度与内标物浓度的比值为横坐标进行直线拟合,按式(1)得到工作曲线参数 *a*, *b* 值。

$$\frac{A_{std}}{A_{IS}} = a \times \frac{c_{std}}{c_{IS}} + b \quad \dots\dots\dots(1)$$

式中：

- A_{std}*——标准品工作液中 25(OH)VD₃ 定量离子 MRM 积分峰面积；
- A_{IS}*——标准品工作液中内标物 MRM 积分峰面积；
- c_{std}*——标准品工作液中 25(OH)VD₃ 的浓度；
- c_{IS}*——标准品工作液中内标物的浓度,本方案中此浓度为 1 μg/mL；
- a*——拟合直线的斜率；
- b*——拟合直线的截距。

直线拟合的相关系数 *R*² > 0.99。

9.4.4.2.2 建立工作曲线

将 9.4.4.2.1 中拟合得到的参数 *a*, *b* 带入式(2),得到工作曲线。

$$\frac{A_{target}}{A_{IS}} = a \times \frac{c_{target}}{c_{IS}} + b \quad \dots\dots\dots(2)$$

式中：

- A_{target}*——血清样本中 25(OH)VD₃ 定量离子 MRM 积分峰面积；
- A_{IS}*——血清样本中内标物 MRM 积分峰面积；
- c_{target}*——血清样本中 25(OH)VD₃ 的浓度；
- c_{IS}*——血清样本中内标物的浓度,本方案中此浓度为 1 μg/mL；
- a*——按照 9.4.4.2.1 中拟合得到的直线斜率；
- b*——按照 9.4.4.2.1 拟合得到的直线截距。

血清 25-羟基维生素 D₃ 检测操作指南
同位素稀释液相色谱串联质谱法

1 范围

本标准规定了血清 25-羟基维生素 D₃ 检测的常规方法-同位素稀释液相色谱串联质谱法的技术要求,包括试剂配制、样本制备、仪器检测、数据分析等内容。

本标准适用于常规实验室利用同位素稀释液相色谱串联质谱法检测血清 25-羟基维生素 D₃。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

内标 internal standard

在定量分析时,加入到试样中能与所有组分完全分离的已知量的纯的化合物。

3.2

检出限 limit of detection

由给定测量程序获得的测得值,其声称的物质成分不存在的误判概率为 β,声称物质成分存在的误判概率为 α。

注 1: 国际理论和应用化学联合会(IUPAC)推荐 α 和 β 的默认值为 0.05。

注 2: 有时使用缩写词 LOD。

[JJF 1001—2011,定义 7.18]

3.3

线性 linearity

在给定的测量范围内,使测定结果与样本中分析物的量直接成比例的能力。此处的测定结果指最终的分析结果,而非仪器输出的原始信号。

[WS/T 408—2012,定义 2.2]

3.4

线性范围 linear range

使实验系统的最终分析结果为可接受的线性的浓度范围,此时非线性误差应低于允许误差。

[WS/T 408—2012,定义 2.3]

3.5

基质效应 matrix effect

被测量以外的某种样品特性对测量被测量的值的影响。

[WS/T 356—2011,定义 2.2]