

# 应用间接法建立北京地区健康成人 HPLC 法测定血清维生素 B1 与 B2 水平的参考区间

贾永娟, 刘杏立, 刘春冉, 倪君君 (北京和合医学诊断技术股份有限公司, 北京 100011)

**摘要:** 目的 建立北京地区健康人群采用高效液相色谱法 (high performance liquid chromatography, HPLC) 检测血清中维生素 B1 与 B2 的参考值范围, 为临床诊断提供参考依据。方法 采用回顾性研究, 收集 2019 年 1 月~2021 年 12 月北京和合医学检验所 5 563 例维生素 B1 与 5 476 例维生素 B2 常规体检结果, 受试者按性别、年龄分组, 妊娠期女性分开统计, 使用 Z 检验来确定各组数据有无显著差异, 后根据改进的霍夫曼方法估算血清中维生素 B1 与 B2 的参考区间, 并选取 2022 年 1~3 月北京和合医学检验所 18~60 周岁体检人群作为验证人群, 将检测值与建立的参考区间进行比较, 对其适用性进行验证。结果 不同年龄、性别成年人血清中维生素 B1 与 B2 水平没有显著差异 [ $Z < Z^*$  并且  $s_2/(s_2-s_1) > 3$ ], 妊娠期也没有明显变化, 可以合并建立参考区间。血清中维生素 B1 的参考区间为 5~23 nmol/L, 维生素 B2 的参考区间为 3.0~24.0 ng/ml。参考区间验证符合率  $\geq 91.2\%$ , 适用性良好。结论 建立了北京地区健康成人血清中维生素 B1 与 B2 的参考区间, 可以为临床测定维生素 B1 与 B2 的含量提供参考。

**关键词:** 维生素 B1; 维生素 B2; 参考区间; 高效液相色谱

中图分类号: R446.112 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414 (2022) 06-149-05

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2022.06.028

## Reference Interval of the Determination of Serum Vitamin B1 and B2 Levels Established by An Indirect Method of HPLC in Healthy Adults in Beijing

JIA Yong-juan, LIU Xing-li, LIU Chun-ran, NI Jun-jun

(Beijing Harmony Health Medical Diagnostics Co. Ltd., Beijing 100011, China)

**Abstract: Objective** Establishing of the reference value range for the high performance liquid chromatography (HPLC) method determination of serum vitamin B1 and vitamin B2 detection in healthy people in Beijing area, and provide reference for clinical diagnosis. **Methods** From January 2019 and December 2021, 5 563 vitamin B1 and 5 476 vitamin B2 routine results from existing laboratory data were collected. Subjects were sub-grouped according to sex and age, pregnant women were counted separately among women. The Z test was used to determine whether the data between groups were significantly different. The reference intervals of vitamin B1 and vitamin B2 were established according to the improved Hoffmann method. Selected 18~60 years old physical examination population of Beijing Harmony Health Medical Laboratory from January to March 2022 as the verification population, compared the detection value with the reference interval of this study to verify its applicability. **Results** There were no significant differences in serum vitamin B1 and vitamin B2 levels among adults of different ages and genders [ $Z < Z^*$  with  $s_2/(s_2-s_1) > 3$ ] and no significant change during pregnancy. The reference interval for vitamin B1 in serum was 5~23 nmol/L, and the reference interval for vitamin B2 was 3.0~24.0 ng/ml. The verification compliance rate of the reference interval was up to 91.2%, and the applicability was good. **Conclusion** The reference intervals of vitamin B1 and vitamin B2 in serum of healthy adults in Beijing area were established. It can provide reference for the clinical determination of vitamin B1 and vitamin B2 content.

**Keywords:** vitamin B1; vitamin B2; reference interval; high performance liquid chromatography (HPLC)

维生素 (vitamin) 是维持人体生命活动必需的一种营养物质。研究表明, 维生素 B1 缺乏与营养不良有关, 严重的维生素 B1 缺乏可导致韦尼克脑病、外周水肿 (湿性脚气病)、外周神经病变 (干性脚气病) 和心力衰竭<sup>[1-2]</sup>。维生素 B2 缺乏通常伴有疲劳、眼睛刺激和喉咙痛, 更严重的缺乏可导致

脑功能障碍<sup>[1,3]</sup>。严重缺乏维生素 B1 与 B2 的情况较少, 但亚临床缺乏仍较常见, 并且由于其微妙的临床表现而常常被忽视。亚临床的维生素缺乏只能通过测量维生素水平来检测。参考区间是解释临床实验室检测结果的关键。目前, 国内实验室应用的维生素 B1 与 B2 的参考区间主要是基于欧美人群

作者简介: 贾永娟 (1986-), 女, 硕士, 检验师, 研究方向: 临床检验, E-mail: jiayongjuan@labhh.com。

通讯作者: 倪君君 (1980-), 女, 博士, 中级工程师, 研究方向: 临床检验, E-mail: article201110704@163.com。

的研究,而基于中国人群的研究相对较少。采用国外的参考区间存在一定的风险,因为人口和生活方式,如年龄、性别、种族/民族、地理和饮食等因素的影响,不同人群的参考区间可能存在差异<sup>[4-6]</sup>。因此,有必要建立适合中国人群的维生素B1与B2的参考区间。本研究拟利用北京和合医学检验所体检科数据库中的检测结果,采用间接法建立血清中维生素B1与B2的参考区间,以期为临床测定维生素B1与B2的含量提供参考。

## 1 材料与方法

1.1 研究对象 本研究为回顾性分析,选取2019年1月~2021年12月北京和合医学检验所体检科数据库中19~60周岁健康成年人血清维生素B1与B2检测结果,剔除信息不完整、信息错误与超出线性范围的数据,有重复测量结果的选择首次测量结果。经过筛选,5563例维生素B1与5476例维生素B2检测结果最终被纳入参考区间的研究。受试者按性别、年龄分组,妊娠期女性分开统计。本研究为回顾性分析,符合《赫尔辛基宣言》原则及相关伦理要求,豁免知情同意。

1.2 仪器与试剂 岛津LC-20A高效液相色谱,RF-20A荧光检测器(岛津,日本)。MIX-25P混匀器(米欧,中国),A-14离心机(Sartorius,德国)。维生素B1与B2标准品(Sigma,美国),蒸馏水(广州屈臣氏食品饮料有限公司,中国),甲醇(默克,德国),乙腈(Fisher,美国)。三氯乙酸、氢氧化钠、铁氰化钾、磷酸二氢钠(国药集团化学试剂有限公司,中国)。

1.3 方法 本研究中血清维生素B1与B2的定量测定方法是在报道的高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)的基础上改进而来的<sup>[7-8]</sup>。血清中维生素B1的测定采用三氯乙酸沉淀蛋白,然后加入碱性铁氰化钾将其氧化成脱氢硫胺素后进行高效液相色谱-荧光分析。血清中维生素B2的测定采用三氯乙酸沉淀蛋白后进行高效液相色谱-荧光分析。具体操作严格按照操作说明进行,根据标准曲线方程计算质控样本和待测样本的测定结果,质控定值在 $\bar{x} \pm 2s$ 之间为合格,可报告检验结果。

1.4 统计学分析 本研究采用改进的Hoffmann方法计算参考区间<sup>[9]</sup>。首先,将各组数据输入到Excel电子表格中,并按升序排序。使用Dixon法进行离群值检验,将疑似离群点与其相邻的点的差值D和数据全距R相除,求D/R比值,若 $D/R \geq 1/3$ ,则该疑似离群点为离群值。使用Z检验来确定各组数据有无显著差异,Z为计算统计量, $Z^*$ 为判断限值,如果 $Z < Z^*$ 并且 $s_2/(s_2-s_1) > 3$ ,

说明两者差异无统计学意义,则两组数据可以合并统计参考区间;如果 $Z > Z^*$ 或 $s_2/(s_2-s_1) < 3$ ,则认为两者差异有统计学意义,应该分组统计参考区间。然后对合并的数据进行对数处理。使用=NORM·INV公式,生成一组标准正态分布数据,后以标准正态分布的分位数为横坐标,对数处理后的样本值为纵坐标制作Q-Q图。如果两分布线性相关,则点在Q-Q图上趋近于落在一条直线上。由正态分布数据通过公式 $\mu \pm 2\sigma$ ( $\mu$ 为均值, $\sigma$ 为标准差)计算参考区间。最后,通过反对数计算,得到最终的参考区间。

选取2022年1~3月北京和合医学检验所18~60周岁体检人群作为验证人群,将检测值与本研究参考区间进行比较,对其适用性进行验证。若 $\geq 90\%$ 检测值包含在本研究参考区间内,则证明本研究建立的参考区间适用于本实验室。

## 2 结果

2.1 不同性别、年龄及妊娠期女性维生素B1和B2的检测结果比较 剔除离群值后,不同性别、年龄及妊娠期女性维生素B1和B2的检测结果见表1。对各组数据进行Z检验,结果见表2。各组计算的 $Z < Z^*$ 并且 $s_2/(s_2-s_1) > 3$ ,表明不同性别、年龄及妊娠期女性维生素B1和B2水平差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$ ),参考区间可以合并。

2.2 建立参考区间 对合并的数据进行对数处理,以标准正态分布的分位数为横坐标,对数处理后的样本值为纵坐标制作Q-Q图,见图1。图1显示了维生素B1与B2的Q-Q图,x轴代表理论标准正态分布的分位数( $\mu=0, \sigma=1$ ),y轴代表各组实际数据分布情况。从Q-Q图可以看出,维生素B1(图1A)的y-x趋近于落在一条直线上,这表明维生素B1的数据几乎是正态分布的,采用全部数据计算其参考区间( $\mu-2\sigma \sim \mu+2\sigma$ );维生素B2(图1B)在-2~+2之间的y-x趋近于落在一条直线上,这表明-2~+2之间的这些数据几乎是正态分布的,采用-2~+2分位数之间的符合标准正态分布的数据计算维生素B2的参考区间( $\mu-2\sigma \sim \mu+2\sigma$ )。最后,通过反对数计算,得到最终维生素B1与B2的参考区间,见表3。

2.3 本研究建立的参考区间与其他机构已报道的参考区间比较 将本研究建立的参考区间与其他机构的参考区间进行比较,结果显示各参考区间之间有一定差异,见表3。本研究建立的维生素B1的参考区间较Quest Diagnostics报道的参考区间略低,维生素B2的参考区间较Quest Diagnostics报道的参考区间略高,与Mayo和文献报道的参考区间较为接近。

表 1 各组维生素 B1 与 B2 的检测结果比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	维生素 B1			维生素 B2		
	年龄 (岁)	n	检测结果 (nmol/L)	年龄 (岁)	n	检测结果 (ng/ml)
男性	19 ~ 30	91	10.31 ± 4.27	19 ~ 30	88	8.56 ± 5.44
	31 ~ 40	569	10.41 ± 4.16	31 ~ 40	566	9.54 ± 6.82
	41 ~ 50	996	11.28 ± 5.78	41 ~ 50	988	10.22 ± 7.77
	51 ~ 60	1 234	11.65 ± 5.51	51 ~ 60	1 223	9.86 ± 7.65
女性	18 ~ 30	109	11.29 ± 4.51	18 ~ 30	109	10.82 ± 8.86
	31 ~ 40	391	11.52 ± 4.63	31 ~ 40	390	10.50 ± 7.54
	41 ~ 50	684	12.68 ± 5.42	41 ~ 50	675	11.14 ± 7.95
	51 ~ 60	949	14.76 ± 6.81	51 ~ 60	938	11.38 ± 7.93
妊娠期女性	18 ~ 43	536	11.24 ± 4.30	18 ~ 42	497	10.70 ± 8.75

表 2 各组 Z 检验结果

类别	维生素 B1			维生素 B2		
	Z	Z*	$s_2/(s_2 - s_1)$	Z	Z*	$s_2/(s_2 - s_1)$
男 (19 ~ 30) VS (31 ~ 40)	0.21	4.97	40.33	1.51	4.95	4.95
(31 ~ 40) VS (41 ~ 50)	3.43	7.66	3.57	1.80	7.63	8.19
(41 ~ 50) VS (51 ~ 60)	1.54	9.14	21.41	1.10	9.11	62.54
女 (18 ~ 30) VS (31 ~ 40)	0.45	4.33	36.69	0.35	4.33	6.69
(31 ~ 40) VS (41 ~ 50)	3.73	6.35	6.89	1.32	6.32	19.38
(41 ~ 50) VS (51 ~ 60)	6.86	7.83	4.90	0.59	7.78	338.93
男 (18 ~ 60) VS 女 (18 ~ 60)	12.67	13.72	8.51	5.54	13.66	18.21
女 (18 ~ 60) VS 妊娠期女性	9.17	10.00	3.42	0.96	9.89	10.46

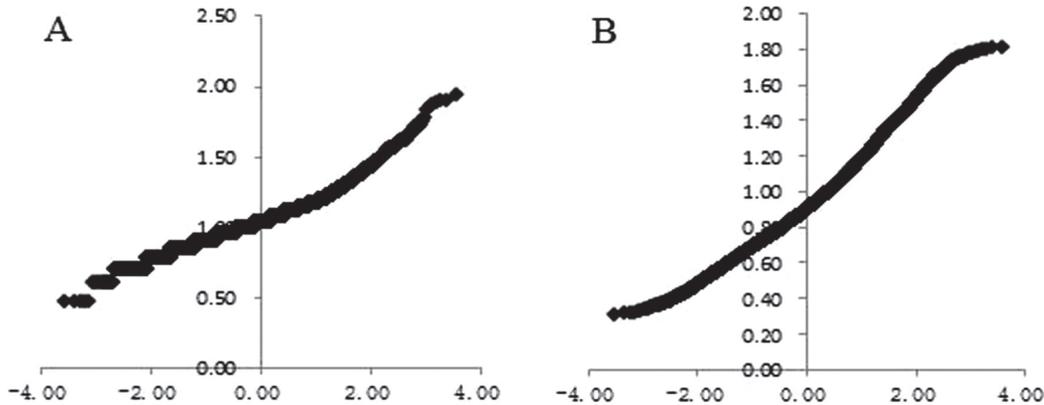


图 1 维生素 B1 与 B2 的 Q-Q 图

表 3 维生素 B1 与 B2 的参考区间

类别	维生素 B1 (nmol/L)	维生素 B2 (ng/ml)
本方法	5 ~ 23	3.0 ~ 24.0
Quest Diagnostics 报道 <sup>a</sup>	8 ~ 30	2.3 ~ 14.7
Mayo 报道 <sup>b</sup>	/	1 ~ 19
文献报道 <sup>[8]</sup>	/	2.5 ~ 18.9

注: <sup>a</sup>Quest Diagnostics 报道: <https://testdirectory.questdiagnostics.com/test/hom>;

<sup>b</sup>Mayo 报道: <https://www.mayocliniclabs.com/test-catalog/overview/42363#Clinical-and-Interpretive>.

2.4 适用性验证 选取 2022 年 1 ~ 3 月北京和合医学检验所 18 ~ 60 周岁体检人群作为验证人群, 与上述参考区间进行比较, 结果见表 4。研究建立的参考区间符合率  $\geq 91.2\%$ , 高于引用 Quest Diagnostics, Mayo 与文献参考区间的符合率, 表明本研究建立的参考区间适用于本实验室。

### 3 讨论

维生素缺乏在各个年龄段的人群中都很普遍。据报道, 在中国的中老年人群中, 维生素 B1 缺乏比例高达 28.2%, 而维生素 B2 缺乏影响世界人口

的10%~15%<sup>[10]</sup>。因此,有必要开发一种快速、简单、可靠的方法来测定人体中维生素B1与B2的含量。参考区间是解释临床实验室检测结果的最主要的依据。我国现行的参考区间制定的行业标准为WS/T 402-2012《临床实验室检验项目参考区间的制定》,通过建立排除标准,选取合适的参考个体来建立参考区间,即直接法。然而直接法建立参考区间筛选参考个体较为困难,过程繁琐、成本高、难以推广<sup>[11]</sup>。近年来提出了利用实验室既有数据以数学统计模型为基础来建立参考区间(间接法)<sup>[9]</sup>。EP28-A3c指南也允许实验室通过间接法建立参考区间,并且已有许多报道证明了间接法建立参考区间的可行性<sup>[11-15]</sup>。与直接法相比,间接法相对简单、费用低廉,无需招募健康个体,在临床实验室具有广阔的应用前景。本研究采用的改良Hoffmann方法,操作简单,不需要安装统计软件,只需在Excel中即可完成数据分析,在临床实验室具有广阔的应用前景。

表4 参考区间验证

项目	维生素B1(n=240)	维生素B2(n=239)
检测值范围	4~49 nmol/L	<61.88 ng/ml
本研究参考范围符合率(%)	95.0%	91.2%
Quest参考范围符合率(%)	82.9%	82.8%
Mayo参考范围符合率(%)	-	90.4%
文献参考范围符合率(%)	-	89.5%

研究不同性别、年龄人群维生素B1和B2的检测结果显示,随着年龄增长,血清维生素B1水平有升高趋势,且各年龄阶段女性维生素B1与B2水平均值均稍高于男性,但差异无统计学意义 $[Z < Z^* \text{ 并且 } s_2/(s_2-s_1) > 3]$ ,其原因可能是维生素B1与B2为水溶性维生素,日常饮食对其浓度影响较大,导致个体间差异较大,使得数据离散度较大导致。维生素在人体内不能自行合成,必须通过食物摄取。WHO报告显示B族维生素的食物来源都很相似,广泛存在于谷类、豆类、坚果、酵母、牛奶、瘦肉与肝脏中,但食物加工过程会导致维生素的损失,如谷类中的维生素B1 80%存在于外皮和胚芽中。因此个人饮食习惯、烹调过程、消化吸收等因素均会影响维生素B1与B2的摄入,导致个体间偏差较大。此外B族维生素类药品与保健品的摄入,也会影响体内维生素B1与B2的含量。

本次研究结果显示,不同性别、年龄成年人的血清维生素B1和B2水平没有显著差异,因此成年人维生素B1和B2的参考区间无需按年龄性别分组,这与Quest等机构的研究结果一致。此外,统计女性妊娠期数据发现,血清维生素B1和B2

水平在女性妊娠期也没有明显变化,表明常规血清维生素B1与B2参考区间对妊娠期女性同样适用。不同机构间建立的参考区间有所差异,提示不同检测方法、不同基质类型、不同人群中维生素B1与B2水平可能存在差异,临床实验室需根据自身情况选择验证或建立适合的参考区间。

虽然间接法建立参考区间的方法相对方便,但利用临床实验室资料建立参考区间存在一定的局限性。例如,间接法的人群代表性可能不如直接法,我们无法从实验室信息系统中下载个体用药和保健品摄入量等信息,不能完全保证所纳入的数据均来自健康个体。但是,本研究使用的数据来自于常规体检的个体,采用的样本量远远大于直接法建立参考区间所需的样本量,可以作为临床诊断的参考。

#### 参考文献:

- [1] NEMAZANNIKOVA N, MIKKELSEN K, STOJANOVSKA L, et al. Is there a link between vitamin B and multiple sclerosis?[J]. *Medicinal Chemistry*, 2018, 14(2): 170-180.
- [2] POURHASSAN M, BIESALSKI H K, ANGERSBACH B, et al. Prevalence of thiamine deficiency in older hospitalized patients[J]. *Clinical Interventions in Aging*, 2018, 13:2247-2250.
- [3] THAKUR K, TOMAR S K, SINGH A K, et al. Riboflavin and health: A review of recent human research[J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2017, 57(17):3650-3660.
- [4] SUN Qiujiu, YUE Yuhong, TIAN Yu, et al. Establishment of reference intervals for pediatric complete capillary blood counts: A multicenter study in Beijing[J]. *International Journal of Laboratory Hematology*, 2020, 42(5):533-543.
- [5] FULGONI V L, AGARWAL S, KELLOGG M D, et al. Establishing pediatric and adult RBC reference intervals with NHANES data using piecewise regression[J]. *American Journal of Clinical Pathology*, 2019, 151(2):128-142.
- [6] GARNOTEL R. Pediatric reference values for alkaline phosphatase and pathophysiological variations[J]. *Ann Biol Clin (Paris)*, 2020, 78(6):604-608.
- [7] AL-DAGHRI N M, AL-ATTAS O S, ALKHARFY K M, et al. Thiamine and its phosphate esters in relation to cardiometabolic risk factors in Saudi Arabs[J]. *Eur J Med Res*. 2013, 18(1):32.
- [8] PETTEYS B J, FRANK E L. Rapid determination of vitamin B<sub>2</sub> (riboflavin) in plasma by HPLC[J]. *Clin Chim Acta*, 2011, 412(1-2):38-43.
- [9] HOFFMANN G, LICHTINGHAGEN R, WOSNIOK W. Simple estimation of reference intervals from routine laboratory data[J]. *Journal of Laboratory Medicine*, 2016, 39(s1).<https://doi.org/10.1515/labmed-2015-0104>.

(下转第157页)

- HU Liang, LUO Xiaojin, CONG Xiaoyi, et al. Quantitative evaluation of the quality of high-resolution chromosome G band preparation of peripheral blood lymphocytes [J]. Journal of International Reproductive Health/Family Planning, 2019, 39(1): 53-55.
- [7] 张曼, 李佳, 马娟, 等. 染色体核型检验诊断报告模式专家共识 [J]. 中华医学杂志, 2016, 96(12): 933-936.  
ZHANG Man, LI Jia, MA Juan, et al. Expert consensus on the diagnostic reporting mode of chromosome karyotyping[J]. National Medical Journal of China, 2016, 96(12):933-936.
- [8] 张丽洁, 袁晓华, 赵园, 等. 466例不良孕产史夫妇的细胞遗传学与临床特征分析 [J]. 现代检验医学杂志, 2019, 34(6): 67-69, 108.  
ZHANG Lijie, YUAN Xiaohua, ZHAO Yuan, et al. Analysis on cytogenetics and clinical characteristics of 466 couples with the history of abnormal gestation and birth [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2019, 34(6):67-69, 108.
- [9] 黄宁, 刘艳秋, 饶慧华, 等. 外周血染色体 G 显带 550 条带的临床应用研究 [J]. 江西医药, 2021, 56(3): 278-280.  
HUANG Ning, LIU Yanqiu, RAO Huihua, et al. The clinical application of 550 G-banding for karyotyping of peripheral blood chromosomes [J]. Jiangxi Medical Journal, 2021, 56(3):278-280.
- [10] 王华伟, 龙艳喜, 王昆华, 等. 人外周血淋巴细胞染色体 G 带制备关键因素分析 [J]. 中国优生与遗传杂志, 2018, 26(3): 118-120.  
WANG Huawei, LONG Yanxi, WANG Kunhua, et al. Analysis of key factors in the preparation of chromosome G-banding in human peripheral blood lymphocytes[J]. Chinese Journal of Birth Health & Heredity, 2018, 26(3): 118-120.
- [11] 龙艳喜, 王卫良, 唐莉, 等. 人外周血染色体核型制备改良方法探讨 [J]. 云南医药, 2019, 40(4): 292-296.  
LONG Yanxi, WANG Weiliang, TANG Li, et al. An improved method for preparing high-resolution chromosome specimen of human peripheral blood cell [J]. Medicine and Pharmacy of Yunnan, 2019, 40 (4): 292-296.
- [12] 明盛金, 马洪熹, 黄滢, 等. 染色体分散仪在外周血染色体标本制备中的应用 [J]. 右江医学, 2021, 49(12): 915-919.  
MING Shengjin, MA Hongxi, HUANG Ying, et al. Application of chromosome disperser in preparation of chromosome samples in peripheral blood [J]. Chinese Youjiang Medical Journal, 2021, 49(12):915-919.
- [13] 罗小芳, 黄柳萍, 吴海燕, 等. 改良同步化法制备外周血染色体技术的可行性研究 [J]. 慢性病学杂志, 2020, 21(8): 1243-1245.  
LUO Xiaofang, HUANG Liuping, WU Haiyan, et al. Feasibility study on the technique of preparing peripheral blood chromosomes by improved synchronization method[J]. Chronic Pathematology Journal, 2020, 21(8):1243-1245.

收稿日期: 2022-07-07

修回日期: 2022-08-01

(上接第 152 页)

- [10] 范志红. 缺乏维生素 B1 能让人抑郁 [J]. 健康人生, 2018(3):40-41.  
FAN Zhihong. Vitamin B1 deficiency can make people depressed?[J]. Healthy Life, 2018(3):40-41.
- [11] 孙泽宇, 柴佳彤, 周琪, 等. 间接法建立长春地区健康成人血清前清蛋白参考区间及与国内其他地区参考区间的比较 [J]. 现代检验医学杂志, 2021, 36(6):148-151.  
SUN Zeyu, CHAI Jiatong, ZHOU Qi, et al. Establishment of reference intervals of serum prealbumin among healthy adults in Changchun area by indirect method and comparison with other regions in China [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2021, 36(6):148-151.
- [12] 李家明, 唐伍涛, 李欣霏, 等. 四川攀枝花地区健康成年体检人群外周血小板及其相关参数生物参考区间的建立与评价 [J]. 现代检验医学杂志, 2021, 36(2):122-125.  
LI Jiaming, TANG Wutao, LI Xinfei, et al. Establishment and evaluation of peripheral blood platelets and its related parameters in healthy adult physical examination population in Panzhihua region Sichuan province [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2021, 36(02):122-125.
- [13] 朱学彤, 王凯瑾, 周琪, 等. 基于实验室信息系统建立甲状腺激素参考区间 [J]. 中华内科杂志, 2020, 59(2):129-133.  
ZHU Xuotong, WANG Kaijin, ZHOU Qi, et al. Establishing reference intervals of thyroid hormone based on a laboratory information system [J]. Chinese Journal of Internal Medicine, 2020, 59(2):129-133.
- [14] LIU Jingrui, ZHAN Sien, JIA Yan, et al. Retinol and  $\alpha$ -tocopherol in pregnancy: Establishment of reference intervals and associations with CBC[J]. Maternal and Child Nutrition, 2020, 16(3): e12975.
- [15] Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Defining, Establishing, and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline-Third Edition[S]. Wayne: PA, CLSI EP28-A3c, 2010.

收稿日期: 2022-05-09

修回日期: 2022-06-05