

自动化磁珠法提取血清脂溶性维生素应用 LC-MS/MS 检测的性能评价

孔卓, 李春艳 (北京积水潭医院医学检验中心, 北京 100035)

摘要: **目的** 评估自动化磁珠法提取血清脂溶性维生素应用液相色谱串联质谱法 (liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS) 检测的性能。**方法** 收集 200 例临床剩余血清样本, 采用自动化磁珠法提取血清中脂溶性维生素 A, D₂, D₃, E 和 K; 同时联合 LC-MS/MS 检测脂溶性维生素 A, D₂, D₃, E 和 K 的线性、定量限、精密度、正确度、携带污染率等性能指标以及基质效应。并比较此方法与传统萃取法检测结果的一致性。**结果** 自动化磁珠法提取脂溶性维生素 A, D₂, D₃, E 和 K 线性相关系数均 > 0.99; 五种物质的定量限分别为 5, 0.25, 0.25, 125 和 0.025 ng/ml; 批内精密度和批间精密度分别为 0.66%~4.83%, 0.15%~3.70%; 平均加标回收率为 87.05%~111.11%; 基质效应为 95.43%~99.07%; 高-低值样本循环进样结果均值与低-低值样本循环进样结果均值之差, 均小于低-低值样本循环进样结果均值的 3s; 统计学结果显示自动化磁珠法和传统萃取法提取的脂溶性维生素结果相关性良好 ($r > 0.99$), 两种方法的检测结果无显著偏倚。**结论** 自动化磁珠法提取脂溶性维生素的检测性能良好, 有望提高样品通量和分析效率。

关键词: 自动化磁珠法; 液相色谱串联质谱; 脂溶性维生素

中图分类号: R446.112; Q503 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414 (2024) 01-131-06

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2024.01.024

Performance Evaluation of Automated Magnetic Beads Extraction Method for Extraction of Serum Fat-soluble Vitamins by LC-MS/MS Detection

KONG Zhuo, LI Chunyan (Department of Clinical Laboratory, Beijing Jishuitan Hospital, Beijing 100035, China)

Abstract: Objective To evaluate the performance of the automated magnetic beads extraction method for extraction of serum fat-soluble vitamins by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). **Methods** A total of 120 clinical residual serum samples were collected and the automated magnetic beads extraction method was applied to extract serum fat-soluble vitamins A, D₂, D₃, E and K. The linearity, limit of quantification, precision, accuracy, carryover and matrix effect of fat-soluble vitamins A, D₂, D₃, E and K were detected by LC-MS/MS. The consistency of the method and conventional extraction method was compared. **Results** The linear correlation coefficients for extracting fat-soluble vitamins A, D₂, D₃, E and K by automated magnetic beads extraction method were all greater than 0.99, and the quantitative limits for these five fat-soluble vitamins were 5, 0.25, 0.25, 125 and 0.025 ng/ml. The intra-batch precision and inter-batch precision were 0.66%~4.83% and 0.15%~3.70%, respectively, and the average spike recovery rate was 87.05%~111.11%. The matrix effect was 95.43%~99.07%, and the difference between the mean value of the cyclic injection results of high-low value samples and the mean value of the cyclic injection results of low-low value samples was less than 3s of the mean value of the cyclic injection results of low-low value samples. The statistical analysis showed that the correlation between the results of the automated magnetic beads extraction method and the conventional extraction method was good ($r > 0.99$), and there was no significant bias in the detection results of the two methods. **Conclusion** The automated magnetic beads extraction method for extraction of fat-soluble vitamins had good detection performance, which may be expected to improve sample flux and analysis efficiency.

Keywords: automated magnetic beads extraction method; liquid chromatography tandem mass spectrometry; fat-soluble vitamins

脂溶性维生素是体内的辅酶和催化剂, 主要溶解于脂肪, 储存于肝脏, 对人体的生长发育、免疫、应激等均有重要作用。脂溶性维生素缺乏会引起人体生理机能、新陈代谢、细胞调节紊乱, 诱发多种

疾病, 而摄入过量则易引起蓄积中毒, 甚至导致死亡^[1-2]。因此, 监测人体内脂溶性维生素的浓度非常必要, 有助于人体健康的评价、疾病的诊断以及治疗过程中摄入量的控制, 临床意义重大。液相色谱

基金项目: 国家自然科学基金委员会, 青年科学基金项目 (编号: 82100257); 北京积水潭医院医工结合项目 (编号: YGQ-202311); 质谱检测血清维生素 K2 含量预测骨质疏松患者转归临床研究。

作者简介: 孔卓 (1980-), 男, 主治医师, 主要研究方向: 生化免疫检验, E-mail: q65Zu99@163.com。

通讯作者: 李春艳 (1988-), 女, 医师, 博士, 主要研究方向: 质谱方法学的构建和质量评价, E-mail: lcypumc@126.com。

谱串联质谱 (liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS) 技术以其高灵敏度、高特异度的强大优势, 被广泛应用于临床检验领域, 且在维生素、单胺类神经递质、激素等项目的检测中备受青睐。目前临床采用质谱技术检测脂溶性维生素的过程中, 大多是通过手工操作完成样本提取, 以萃取法居多, 需浓缩、正压、多次离心等^[3-6], 自动化程度极低, 对操作人员技能要求较高, 容易出现假阳性结果。自动化磁珠法样本制备前处理简单, 自动化程度较高, 极大程度地降低了人为因素, 节约了人力和时间成本, 并且有望将液相色谱-串联质谱技术发展成为前处理和检测一体的全自动分析仪。故本研究拟采用磁珠法进行样本前处理, 联合液相色谱串联质谱检测人血清中脂溶性维生素含量, 并与传统萃取法检测结果作为对照, 评估该检测程序的分析性能, 为临床脂溶性维生素样本检测自动化前处理的方法选择提供重要依据。

1 材料与方法

1.1 研究对象 收集当天临床检测剩余血清样本, 选取非乳糜、黄疸的200例样本分装后保存于-80℃备用。本研究经过医院伦理委员会审核批准后实施。

1.2 仪器与试剂 液相色谱串联质谱系统 (美国 Waters Xevo TQ-S IVD); ZPTQ 32 自动化磁珠法质谱全自动样品处理系统 (北京梅斯质谱生物科技有限责任公司); BY-R20 型高速冷冻离心机 (北京白洋医疗器械有限公司); MTV-100 多管涡旋混合仪和 MB100-2A 微孔板恒温振荡器 (杭州奥盛仪器有限公司); 传统萃取法脂溶性维生素测定试剂盒 (杭州凯莱谱精准医疗检测技术有限公司); 自动

化磁珠法脂溶性维生素测定试剂盒 (北京梅斯质谱生物科技有限责任公司)。维生素 A 质控品: 90, 432, 864 ng/ml; 25- 维生素 D₂ 质控品: 3, 14.4, 28.8 ng/ml; 25- 维生素 D₃ 质控品: 7.5, 36, 72 ng/ml; 维生素 E 质控品: 1 725, 8 280, 16 560 ng/ml; 维生素 K 质控品: 0.3, 1.44, 2.88 ng/ml。

1.3 方法

1.3.1 自动化磁珠法样本制备: 按照试剂盒操作说明操作, 将 100 μl 血清样本加入预设的 96 孔中的样本位置, 再将同位素内标加入其中, 后将 96 孔板转移至前处理系统 ZPTQ 32 仪器中进行自动化样本提取。标线、质控和样本同步操作处理。

1.3.2 传统萃取法样本制备: 按照试剂盒操作说明操作, 取 50 μl 血清样本, 加入 250 μl 脂溶性维生素萃取液 (含内标), 涡旋 8 min, 4 000 r/min 离心 10 min, 取上清液 200 μl 待测。标线、质控和样本同步操作处理。

1.3.3 色谱条件: 色谱柱为 Kinetex 2.6 μm C18 100A 30 × 2.1 mm, 流动相为 0.1% 甲酸水 (A) ~ 0.1% 甲酸甲醇 (B), 梯度洗脱: 0 ~ 0.5 min, 40% 流动相 A; 0.5 ~ 2 min, 40% ~ 0% 流动相 A; 2 ~ 3.5 min, 0% 流动相 A; 3.51 ~ 5 min, 40% 流动相 A; 流速 0.5 ml/min; 柱温 40 ℃, 进样量 10 μl。

1.3.4 质谱条件: 采用正离子电喷雾离子化多反应监测模式 (MRM), 离子源温度 150 ℃, 毛细管电压 3.5 kV, 脱溶剂气和辅助气为氮气, 脱溶剂气 (氮气) 体积流量 800 L/h, 脱溶剂气温度 600 ℃, 其他主要参数见表 1。

表 1 脂溶性维生素的相关质谱参数

物质名称	母离子/子离子 (m/z)	锥孔电压 /V	碰撞能量 /eV	物质名称	母离子/子离子 (m/z)	锥孔电压 /V	碰撞能量 /eV
维生素 A	269.2 > 81.0	25	20	维生素 A-IS	275.2 > 96	20	20
维生素 D ₂	413.2 > 337.2	20	20	维生素 D ₂ -IS	419.4 > 401.2	19	9
维生素 D ₃	401.3 > 383.1	20	8	维生素 D ₃ -IS	404.3 > 368.1	20	10
维生素 E	431.3 > 83.1	33	20	维生素 E-IS	437.3 > 171.3	20	20
维生素 K	451.4 > 187.1	40	22	维生素 K-IS	455.4 > 191.1	40	22

1.3.5 性能验证: 性能验证过程参考《液相色谱-质谱临床应用建议》^[7] 和《液相色谱串联质谱临床应用检测方法的开发与验证》^[8] 两部专家共识。

1.3.5.1 线性、定量限和检测限评价指标 以标准溶液的浓度为 X 轴, 标准品和内标峰面积的比值为 Y 轴, 进行线性回归分析, 经 “1/X²” 权重得到线性回归方程, 且 $r^2 > 0.99$ 。将血清样本中各物质峰面积和其内标的峰面积比值代入线性回归方程, 计算样本中脂溶性维生素 A, D₂, D₃, E, K 的含

量。检测限为信噪比 ≥ 3 时的浓度, 定量限为信噪比 ≥ 10 时的浓度, 且连续 10 次测定的变异偏差应 < 20%。

1.3.5.2 精密度评价方案: 混合血清样本平均分为 2 份, 1 份加入适量低浓度混合标准品作为低值样本, 1 份加入适量高浓度混合标准品作为高值样本, 混匀后分别分装保存于 -80 ℃ 冰箱。每天各取出 1 支, 制备 8 个平行管, 测定三个批次, 计算精密度, 批内精密度和批间精密度的相对偏差应 ≤ ± 15%。

1.3.5.3 正确度评价方案：通过加标回收率判断测定准确度，混合血清、混合血清添加脂溶性维生素 A, D₂, D₃, E, K 两个水平的混合标准品溶液各 10 μl, 按上述前处理方法处理, 各制备 3 个平行管, 计算加样回收率和测量偏差, 加样回收率的相对偏差应 ≤ ±15%。

1.3.5.4 基质效应评价方案：采用样本处理后加入法。取 8 份来源于不同个体的血清样本, 每份样本分为 3 份, 经过自动磁珠法提取后, 一份加入水空白, 一份加入 10 μl 脂溶性维生素高浓度混合标准品, 最后一份加入 10 μl 脂溶性维生素低浓度混合标准品, 3 份均加入 20 μl 混合内标。去除空白样本的信号值后与溶剂中标准品峰面积 (或峰面积比值) 进行比较, 判断基质效应, 基质效应的相对偏差应 ≤ ±15%。

1.3.5.5 携带污染评价方案：选择高值质控和低值质控样本作为实验对象, 分别进行高 - 低质控进样循环 5 次和低 - 低质控进行循环 5 次, 高 - 低值样本循环进样结果均值与低 - 低值样本循环进样结果

均值之差应小于低 - 低值样本循环进样结果均值的 3s。

1.4 统计学分析 两种前处理方法提取并检测, 检测结果使用 MedCalc®20.0.27 (比利时 MedCalc Software bvba 公司) 软件进行统计学分析。采用 Bland-Altman 法比较两种前处理方法结果的一致性, 通过 Passing-Bablok 回归分析两种前处理方法结果之间的相关性。

2 结果

2.1 血清样本经自动化磁珠法提取脂溶性维生素后检测得到的各色谱峰 峰形对称, 峰形良好互不干扰; 与传统萃取法提取后的检测结果比较, 未发现自动化磁珠法提取后的杂峰有明显增多。

2.2 自动化磁珠法提取脂溶性维生素性能评价结果

2.2.1 线性、定量限和检测限：脂溶性维生素 A, D₂, D₃, E, K 在标准曲线范围内相关性良好, 各批次的相关系数均在 0.99 以上, 定量限和检测限满足要求, 相关具体参数见表 2。

表 2 磁珠法提取脂溶性维生素 LC-MS/MS 检测的回归方程、相关系数、线性范围、定量限及检出限

分析物	回归方程	相关系数	线性范围 (ng/ml)	定量限 (ng/ml)	检出限 (ng/ml)
维生素 A	$Y=0.053\ 942\ 2X-0.416\ 081$	0.999 1	10~2 000	5	2.5
维生素 D ₂	$Y=0.002\ 225\ 13X+0.001\ 224\ 1$	0.999 4	0.5~100	0.25	0.2
维生素 D ₃	$Y=0.075\ 101X+0.029\ 263\ 4$	0.998 8	0.5~100	0.25	0.2
维生素 E	$Y=0.977\ 969X+0.406\ 469$	0.999 9	250~100 000	125	50
维生素 K	$Y=0.089\ 369\ 7X+0.001\ 717\ 75$	0.998 8	0.05~50	0.025	0.01

2.2.2 精密度和正确度：见表 3。脂溶性维生素 A, D₂, D₃, E, K 的低值样本和高值样本批内精密度的分别在 0.66%~4.83%, 0.15%~3.70%；批间精密度的

分别在 1.16%~4.33%, 2.44%~6.61%，加标回收率在 87%~112%，百分偏差均在 ±15% 以内, 满足检测要求。

表 3 磁珠法提取脂溶性维生素 LC-MS/MS 检测的精密度和正确度

分析物	浓度水平	批内精密度 (%)			批间精密度 (%)	理论加入浓度 (ng/ml)	平均测定浓度 (ng/ml)	平均回收率 (%)	测量偏差 (%)
		第一批	第二批	第三批					
维生素 A	L	0.66	0.78	2.52	1.16	40	42.71	106.77	6.78
	H	0.80	2.21	0.76	3.27	160	175.15	109.47	9.47
维生素 D ₂	L	4.83	2.49	4.66	3.03	2.5	2.18	87.05	-12.80
	H	1.75	2.26	1.62	3.28	10	9.76	97.55	-2.40
维生素 D ₃	L	1.53	2.09	1.05	3.84	5	4.68	93.59	-6.40
	H	0.32	0.97	0.65	2.61	20	21.82	109.08	9.10
维生素 E	L	1.42	2.27	1.26	3.76	1 000	1 050	104.73	5.00
	H	2.39	1.98	0.15	2.44	4 000	3 590	89.81	-10.25
维生素 K	L	2.41	1.98	4.55	4.33	0.15	0.17	111.11	13.33
	H	1.64	1.10	3.70	6.61	0.6	0.57	95.33	-5.00

2.2.3 基质效应和携带污染：见表4。脂溶性维生素 A, D₂, D₃, E, K 在电喷雾离子源检测下几乎没有基质抑制，经同位素内标校正，基质效应均在

100%左右；高-低值样本循环进样结果均值与低-低值样本循环进样结果均值之差均小于低-低值样本循环进样结果均值的3s，满足检测要求。

表4 磁珠法提取脂溶性维生素 LC-MS/MS 检测的基质效应和携带污染

分析物 (ng/ml)	绝对基质效应 (%)	相对基质效应 (%)	高-低值转换样本均值 (ng/ml)	低-低值转换样本均值 (ng/ml)	差值 (ng/ml)	3s
维生素 A	96.99	98.80	353.46	351.17	2.28	6.91
维生素 D ₂	97.02	98.82	20.21	20.5046	-0.30	2.97
维生素 D ₃	97.26	99.07	40.19	41.03	-0.84	1.88
维生素 E	95.43	97.21	8.38	8.18	0.20	0.35
维生素 K	96.53	98.33	1.28	1.25	0.03	0.19

2.2.4 方法比对：见表5。对自动化磁珠法和传统萃取法两种方法提取200例临床血清样本中脂溶性维生素的测定结果进行 Bland-Altman 和 Passing-Bablok 回归分析。Bland-Altman 分析结果显示所有样本均在 $\pm 1.96s$ ，表明两种提取方法检测结果具有较高的一致性，Passing-Bablok 回归分析结果显示两种提取方法的检测结果相关性良好（均 $r > 0.99$ ，95% CI 均在 0.986~0.997 之间）。

表5 两种方法提取临床血清样本中脂溶性维生素的测定结果比较

分析物 (ng/ml)	相关系数 (r)	95%CI
维生素 A	0.994	0.993~0.996
维生素 D ₂	0.995	0.994~0.997
维生素 D ₃	0.992	0.989~0.994
维生素 E	0.990	0.986~0.992
维生素 K	0.992	0.989~0.994

3 讨论

脂溶性维生素是人体内不可或缺的一类营养物质，缺乏或过量均会对身体机能造成损伤，诱发多种疾病^[3,5]。人体缺乏维生素 A，会引起儿童发育不良、皮肤干燥、干眼病、夜盲症等；缺乏维生素 D 可能会导致儿童佝偻病、成人骨质疏松症、软骨症、肌无力，增加老年人跌倒和骨折的风险；维生素 E 与肌肉、神经、生殖有关，摄入不足可能产生运动失调、毛发脱落、不育等症状；维生素 K 又叫凝血维生素，缺乏可能致凝血时间延长，严重时危及生命^[9]。但是补充过量的脂溶性维生素同样会导致不良事件的发生，维生素 A 补充过量可引起维生素 A 过多症、牙龈出血，甚至出现急性或慢性中毒；维生素 D 补充过量则可能会导致血钙浓度过高，引起钙盐在肾脏、肺脏、神经系统和心血管系统等重要器官和组织的沉积钙化，产生不可逆的严重损害；长期服用较大剂量的维生素 E 有可能出现肌无力、疲倦、头痛和恶心等中毒症状，维生素 E 过量还可

能引起大出血；过量补充维生素 K 会导致人体发生癌症和出现皮疹的现象，孕妇服用大剂量维生素 K 有可能造成新生儿黄疸。综上所述，对于儿童以及孕妇等特殊人群，准确检测脂溶性维生素尤为重要。

儿童由于受关注度、年龄小、描述病情能力弱等特点，在儿科临床诊疗工作中，许多家长以及一些临床医生对儿童是否要补充维生素、是否需要持续补充以及担心维生素过量或中毒等方面常常存在困惑。脂溶性维生素谱检测为指导临床上维生素科学合理补充提供有力的参考依据。对于高代谢水平的孕产妇而言，维生素缺乏或过量均会造成不理想的妊娠结局，有研究表明，维生素 D 与维生素 D 受体结合后可参与胚胎着床、妊娠相关蛋白和细胞因子的分泌及钙的输送，在维持正常妊娠和胎儿发育中发挥着重要作用^[10]。由于孕妇及家属对维生素的认知不足，只是单纯认为补充维生素 D 就够了，忽视了维生素 A, E, K 的意义，导致妊娠期、围产期以及新生儿发育期间产生不同程度的危害。故建议提高医生及孕妇对合理补充维生素的重视程度，加强宣传和引导，使孕期维生素营养检测成为常规，根据孕妇自身需要制定个体化补充方案，避免因补充不当造成孕产妇及围生儿隐匿性不良结局。因此，对体内脂溶性维生素含量的检测是非常必要的。

目前临床常用的方法主要集中在免疫法、色谱法和质谱法，各有优劣。免疫法虽操作简单，但无法精准区分 VD₂, VD₃，只能测 VD 总含量，且不可同时检测多种脂溶性维生素^[3]；色谱法可精准区分 VD₂, VD₃，也可同时检测多种脂溶性维生素，但其灵敏度不高，且操作复杂^[11-13]；常见的质谱法虽然灵敏度高，但其前处理的方法包括固相萃取、液液萃取及蛋白沉淀等，均存在各自不足，如蛋白沉淀的方式简单、成本低，但是处理粗糙，对仪器、色谱柱污染较大，且易出现离子抑制导致检测灵敏度较差，一般仅适用于含量较高的药物浓度监测；

液液萃取的方式成本较低,但是使用挥发性溶剂较多,且需经过离心、取上清、氮吹等较为繁琐的步骤,仅适用于脂溶性维生素、脂肪酸等中等极性或弱极性物质的提取;若是含量较低的代谢物或激素类物质需使用固相萃取法,该方法能有效提取浓缩待测物,但成本较高,还需多次离心、浓缩等复杂过程,对操作人员要求较高,自动化程度极低,容易造成假阳性结果^[3-5]。

本研究采用的磁珠法是通过在磁珠表面进行化学基团修饰,使待测物与磁珠表面键合相发生吸附解吸附的过程(模拟固相萃取),将活化平衡后的磁珠加入待测样本中,充分混匀,使待测物被吸附在磁珠上,再通过不同极性强度的洗脱溶液洗脱,以达到待测物的分离和纯化^[14-15]。与传统固相萃取法相比,磁珠法通过磁珠的转移来实现目标待测物的分离,不仅操作简单、自动化程度较高,且未来有望实现前处理和检测分析一体的全自动液相色谱-串联质谱设备。

综上,自动化磁珠法样本制备联合液相色谱串联质谱检测人血清中脂溶性维生素的检测性能稳定,满足相关指南及临床检测要求。磁珠法在未来有望实现大规模化应用于临床质谱检测的自动化前处理过程,提高检测效率和精度,方便临床检验应用。

参考文献:

- [1] 王震,孙利东,乔健敏,等.蒙古族传统奶酪中8种脂溶性维生素和 β -胡萝卜素高效液相色谱检测方法的建立[J].畜牧与饲料科学,2023,44(1):97-104. WANG Zhen, SUN Lidong, QIAO Jianmin, et al. Establishment of an HPLC method for simultaneous determination of 8 fat-soluble vitamins and β -carotene in mongolian traditional cheese[J]. Animal Husbandry and Feed Science, 2023, 44(1): 97-104.
- [2] 温明晓,窦晓青.脂溶性维生素与妊娠期高血压疾病临床研究[J].中国妇幼健康研究,2019,30(9):1101-1103. WEN Mingxiao, DOU Xiaoqing. Relationship between fat soluble vitamins and preeclampsia[J]. Chinese Journal of Woman and Child Health Research, 2019, 30(9): 1101-1103.
- [3] 陈敏纯,张婧一,郑洁,等.LC-MS/MS法测定人体血清中脂溶性维生素浓度[J].分析仪器,2021(6):135-139. CHEN Minchun, ZHANG Jingyi, ZHENG Jie, et al. Determination of fat-soluble vitamins in human serum by LC-MS/MS[J]. Analytical Instrumentation, 2021(6): 135-139.
- [4] 刘海培,姜小梅,韩文念,等.人体血清中3种脂溶性维生素的液相色谱-串联质谱分析方法研究[J].分析测试学报,2019,38(6):728-733. LIU Haipei, JIANG Xiaomei, HAN Wennian, et al. Study on analysis methods of three fat-soluble vitamins in human serum by liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Journal of Instrumental Analysis, 2019, 38(6): 728-733.
- [5] 李雪梅,吴慧慧,陈竞,等.超高效液相色谱-串联质谱法同时快速检测微量血清中6种脂溶性维生素[J].现代预防医学,2022,49(7):1297-1302. LI Xuemei, WU Huihui, CHEN Jing, et al. Simultaneous and rapid determination of 6 kinds of fat-soluble vitamins in micro-serum using ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Modern Preventive Medicine, 2022, 49(7): 1297-1302.
- [6] 赵晓童,李晓敏.乳制品中脂溶性维生素检测的前处理方法研究进展[J].食品安全质量检测学报,2022,13(21):6876-6881. ZHAO Xiaotong, LI Xiaomin. Research progress on pretreatment methods of fat-soluble vitamins detection in dairy products[J]. Journal of Food Safety & Quality, 2022, 13(21): 6876-6881.
- [7] 中华医学会检验医学分会,卫生计生委临床检验中心.液相色谱-质谱临床应用建议[J].中华检验医学杂志,2017,40(10):770-779. Chinese Society of Laboratory Medicine, Clinical Laboratory Center of Health and Family Planning Commission. Clinical application suggestions of liquid chromatography-mass spectrometry[J]. Chinese Journal of Laboratory Medicine, 2017, 40(10): 770-779.
- [8] 曹正,李水军,沈敏,等.液相色谱串联质谱临床检测方法的开发与验证[J].检验医学,2019,34(3):189-196. CAO Zheng, LI Shuijun, SHEN Min, et al. Consensus of method development and validation of liquid chromatography-tandem mass spectrometry in clinical laboratories[J]. Laboratory Medicine, 2019, 34(3): 189-196.
- [9] 张倩倩,王乐园.血清维生素A、D、E、K的浓度与脑血管疾病的关系[J].临床医药文献电子杂志,2020,7(35):81. ZHANG Qianqian, WANG Leyuan. Relationship between serum vitamin A, D, E and K concentration and cerebrovascular diseases[J]. Electronic Journal of Clinical Medical Literature, 2020, 7(35): 81.
- [10] 崔普芳,刘爱胜,李喆,等.深圳龙华区孕妇血清维生素D水平及其受体基因rs2228570多态性与子痫前期易感性相关性研究[J].现代检验医学杂志,2021,36(5):23-27. CUI Pufang, LIU Aisheng, LI Zhe, et al. Study on the correlation between serum vitamin D level and rs2228570 polymorphism of its receptor gene and preeclampsia susceptibility in pregnant women in shenzhen longhua district[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2021, 36(5): 23-27.
- [11] 赵蓓蓓,刘伟霞,程雅婷,等.临床实验室脂溶性维生素检测的生化指标及方法概述[J].临床儿科杂志,2018,36(2):157-160. ZHAO Beibei, LIU Weixia, CHENG Yating, et al. Summary of biochemical indexes and methods for determination of fat-soluble vitamins in clinical laboratory[J]. Journal of Clinical Pediatrics, 2018, 36(2): 157-160.

- 2006[J]. *Journal of Nutrition*, 2011, 141(2): 261-266.
- [15] Institute of Medicine, A Report of the Standing Committee on Food and Nutrition Board: Dietary reference intakes for thiamin, riboflavin, niacin, vitamin B6, folate, vitamin B12, pantothenic acid, biotin, and choline[M]. Washington, DC: National Academy Press, 1998.
- [16] PÖHLER A, FAIGLE J, STAACK R F. Evaluation of potential biotin interference in immunogenicity testing[J]. *Bioanalysis*, 2019, 11(17): 1547-1554.
- [17] SAMARASINGHE S, MEAH F, SINGH V, et al. Biotin interference with routine clinical immunoassays: understand the causes and mitigate the risks[J]. *Endocrine Practice*, 2017, 23(8): 989-998.
- [18] LI Jieli, WAGAR E A, MENG Q H. Comprehensive assessment of biotin interference in immunoassays[J]. *Clinica Chimica Acta*, 2018, 487(suppl1): 293-298.
- [19] 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.
- [20] ELSTON M S, SEHGAL S, DU TOIT S, et al. Factitious graves' disease due to biotin immunoassay Interference-A case and review of the literature[J]. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2016, 101(9): 3251-3255.
- [21] PIKETTY M L, PRIE D, SEDEL F, et al. High-dose biotin therapy leading to false biochemical endocrine profiles: validation of a simple method to overcome biotin interference[J]. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 2017, 55(6): 817-825.
- [22] TRAMBAS C, LU Zhong, YEN T, et al. Depletion of biotin using streptavidin-coated microparticles: a validated solution to the problem of biotin interference in streptavidin-biotin immunoassays[J]. *Annals of Clinical Biochemistry*, 2018, 55(2): 216-226.
- [23] YANG Jianbo, WIENCEK J R. Mitigating biotin interference in two Roche immunoassays by premixing biotinylated capturing molecules with streptavidin coated beads [J]. *Clinica Chimica Acta*, 2020, 505: 130-135.
- [24] 刘栋, 仝慧, 陈斌, 等. 化学发光技术中磁珠浓度对光信号水平的影响 [J]. *检验医学与临床*, 2021, 18(8): 1080-1083.
- LIU Dong, TONG Hui, CHEN Bin, et al. Influence of magnetic bead concentration on light signal level in chemical luminescence technology[J]. *Laboratory Medicine and Clinic*, 2021, 18(8): 1080-1083.
- [25] 佚名. 医疗机构便携式血糖检测仪管理和临床操作规范(试行)[Z]. 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会公报, 2011.
- Anonymity. Standard for management and clinical operation of portable blood glucose monitors in medical institutions(Trial)[Z]. *Bulletin of National Health Commission of the People's Republic of China*, 2011.
- [26] MROSEWSKI I, URBANK M, STAUCH T, et al. Interference from high-dose biotin intake in immunoassays for potentially time-critical analytes by roche[J]. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, 2020, 144(9): 1108-1117.

收稿日期: 2023-05-14

修回日期: 2023-08-18

(上接第135页)

- [12] 朱洁. 在线固相萃取二维液相色谱法测定复合维生素片中的维生素A, D, E[J]. *中国食品添加剂*, 2020, 31(10): 123-128.
- ZHU Jie. Simultaneous determination of vitamin A, D and E in multivitamin tablets by online solid-phase extraction two-dimensional liquid chromatography[J]. *China Food Additives*, 2020, 31(10): 123-128.
- [13] SONTAG G, PINTO M I, NORONHA J P, et al. Analysis of food by high performance liquid chromatography coupled with coulometric detection and related techniques: a review[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2019, 67(15): 4113-4144.
- [14] 禹松林, 马晓丽, 于佳磊, 等. 自动化磁珠法样本制备联合液相色谱串联质谱检测儿茶酚胺代谢物的性能评价 [J]. *中华检验医学杂志*, 2022, 45(3): 268-274.
- YU Songlin, MA Xiaoli, YU Jialei, et al. Performance evaluation of automated magnetic beads extraction method for the measurement of catecholamine metabolites analyzed by liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. *Chinese Journal of Laboratory Medicine*, 2022, 45(3): 268-274.
- [15] 卢山, 董辉苒, 任文华, 等. 自动化磁珠法标本制备联合液相色谱串联质谱检测人血清中25-羟基维生素D的性能评价 [J]. *国际检验医学杂志*, 2022, 43(10): 1234-1237, 1243.
- LU Shan, DONG Huiran, REN Wenhua, et al. Performance evaluation of automated magnetic bead-based specimen preparation combined with liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the detection of 25-hydroxyvitamin D in human serum[J]. *International Journal of Laboratory Medicine*, 2022, 43(10): 1234-1237, 1243.

收稿日期: 2023-04-10

修回日期: 2023-10-20