



中华人民共和国国家标准

GB/TXXXXX—XXXX

医学实验室和体外诊断系统 液相色谱-质谱检测方法 第1部分：通用要求

Medical laboratories and in vitro diagnostic systems — Liquid chromatography—mass spectrometry testing methods — Part 1: General requirements

(点击此处添加与国际标准一致性程度的标识)

草案版次选择

(本草案完成时间：2024-08-31)

在提交反馈意见时，请将您知道的相关专利连同支持性文件一并附上。

XXXX-XX-XX 发布

XXXX-XX-XX 实施

国家市场监督管理总局
国家标准化管理委员会 发布

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利，本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由国家药品监督管理局提出。

本文件由全国医用临床检验实验室和体外诊断系统标准化技术委员会（SAC/TC136）归口。

本文件起草单位：

本文件主要起草人：

引言

液相色谱-串联质谱法（LC-MS/MS）作为一种联合液相色谱分离和质谱分析的检验技术方法，具有高选择性、高特异性以及高灵敏度的特点，适合用于医学实验室开展小分子化合物的定性、定量检测（如激素、药物及其代谢产物、维生素、氨基酸等）。受试剂盒、校准物质、内标物、样品前处理方法、色谱条件、质谱参数的选择差异等因素影响，如未建立规范化的方法，同一个实验室内部及不同实验室之间的 LC-MS/MS 检测结果可能存在偏差。

为指导医学实验室建立 LC-MS/MS 检测方法的规范化方法，本标准基于目前现有的临床质谱相关指导文件和临床实践，针对医学实验室建立和开展基于 LC-MS/MS 方法的检验项目过程中的关键质量要素、方法学评价、质量控制等方面提出基本指导原则，旨在提高检验结果的准确性及可靠性。

本系列文件拟由6个部分构成。

——第1部分：通用要求。目的在于规定液相色谱-质谱检测方法的通用要求。

——第2部分：检测类固醇激素的要求。目的在于规定液相色谱-质谱法检测人体样品中类固醇激素的要求。

——第3部分：检测脂溶性维生素的要求。目的在于规定液相色谱-质谱法检测人体样品中脂溶性维生素的要求。

——第4部分：检测水溶性维生素的要求。目的在于规定液相色谱-质谱法检测人体样品中水溶性维生素的要求。

——第5部分：检测小分子治疗药物浓度的要求。目的在于规定液相色谱-质谱法检测人体样品中小分子治疗药物浓度的要求。

——第6部分：检测蛋白质、多肽类物质的要求。目的在于规定液相色谱-质谱法检测人体样品中蛋白质、多肽类物质的要求。

医学实验室和体外诊断系统 液相色谱-质谱检测方法 第1部分：通用要求

1. 范围

本文件规定了在医学实验室和体外诊断系统中建立、开展液相色谱-质谱时，对人员、设施与环境、试剂与耗材、设备、方法开发与确认、检验过程的要求。

本文件适用于建立液相色谱-质谱法的检测系统、开展液相色谱-质谱法检验活动的医学实验室和体外诊断制造商。

2. 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；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 22576.1-2018, ISO 15189: 2012, IDT 医学实验室 质量和能力的要求 第1部分 通用要求

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

WS/T 225-2002 临床化学检验血液标本的收集与处理

WS/T 641-2018 临床检验定量测定室内质量控制

WS/T 644-2018 临床检验室间质量评价

WS/T 415-2013 无室间质量评价时实验室检测评估方法

WS/T 442-2024 临床实验室生物安全指南

WS/T 225 临床化学检验血液标本的收集与处理

WS/T 348 尿液标本的收集及处理指南

WST 661-2020 静脉血液标本采集指南

WS/T 402 临床实验室检验项目参考区间的制定

WS/T 403 临床生物化学检验常规项目分析质量指标

JJF 1317-2011 液相色谱-质谱联用仪校准规范

3. 术语、定义和缩略词

GB/T 22576.1-2018 界定的以及下列术语和定义适用于本文件。

3.1 术语和定义

3.1.1 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。[来源: WS/T 478-2015, 3.1]

3.1.2 参考物质 (reference material)

一种或多种指定特性足够均匀和稳定, 已被证明适合在测量过程中或名义特性检验中预期应用的物质。[来源: GB/T 29791.1-2013, 3.58]

3.1.3 有证参考物质 (certified reference material)

附有由权威机构发布的文件, 提供使用有效程序获得的具有不确定度和溯源性的一个或多个特性值的标准物质。[来源: JJF 1005-2016, 3.2]

3.1.4 校准物质 (calibration material)

根据规定的测量程序, 用于对测量系统进行校准的测量标准。[来源: ISO 17511-2020, 3.6]

3.1.5 定量限 (limit of quantitation)

在规定的测量条件下以指定的测量不确定度测量的样品中可被测量的最低值。[来源: GB/T 29791.1-2013, A.3.44]

3.2 缩略词

LC-MS/MS: 液相色谱-串联质谱法 (liquid chromatography-tandem mass spectrometry)

CV: 变异系数 (coefficient of variation)

EQA: 室间质量评估 (external quality assessment)

IS: 内标 (internal standard)

QA: 质量评价 (quality assessment)

QC: 质量控制 (quality control)

Tea: 允许总误差 allow total error

LOQ: 定量限 (limit of quantitation)

LoD: 检测限 (limit of detection)

LLMI: 定量检测下限 (lower limit of measuring interval)

IS: 内标 (internal standard)

MRM: 多反应监测 (multiple reaction monitoring)

LDT: 实验室自建项目 (laboratory developed test)

人员

应符合 GB/T 22576.1-2018, ISO 15189: 2012, IDT 5.1 人员部分的规定, 包括合适的人员资质、清晰的岗位描述、不同岗位的培训/评估及专业发展等。

实验室主任和/或技术主管应具备质谱理论知识、实践经验及组织协调能力, 应根据相关规定和实验室实际情况建立和制定临床质谱实验室的质量管理体系及管理规范、实验室各类制度等, 以保障临床质谱实验室有序运行并高效服务临床。

实验室技术人员应经过色谱质谱原理、仪器使用及维护、检测项目 SOP、结果分析处理等专项培训, 考核合格方可上岗; 离岗半年需再次进行操作培训及考核; 离岗超过 2 年, 需经过再次理论培训、操作培训及考核。

应为所有人员提供相应岗位培训, 包括: 质量管理体系、具体分派工作程序、质谱仪的使用维护、适用的实验室信息系统、健康与安全 (包括职业病危害、生物安全、危化品管理、防止或控制不良事件的影响等)、伦理、院感、患者信息保密等。

设施与环境

5.1 布局设计

临床质谱实验室应基于工作流程、不同实验活动的相容性及仪器运行期间相互影响的可能性等因素, 进行有效的分区。

质谱实验室应设置于相对独立的区域, 不与常规生化、免疫等检测区混设, 不与患者诊疗区域混设; 同时应合理规划仪器区、样本制备区、结果分析及报告区、气源区、耗材区、样本及试剂储存区、危化品区、医废危废区等。

5.2 安全防护

5.2.1 当使用压力容器内气体时, 要遵从相关规定。若容器置于仪器附近, 则应将容器固定到基座、墙壁、实验台上等, 以免翻倒。

5.2.2 通过配置通风橱、万向排风罩等通风设备确保实验室人员安全。

5.2.3 通过实行“人机分离”或降噪耳机降低机械泵、超声清洗仪等噪音危害。

5.3 温湿度

液相色谱-串联质谱仪温度和湿度应按照厂家说明书推荐，一般应控制在 20℃-30℃，相对湿度应小于 70%。

5.4 电源

评估关键分析设备及辅助设备的用电需求，并据此设计配置不间断电源和/或双路电源以保证设备的正常运行。

试剂与耗材

6.1 试剂选择

质谱试剂的在选择的过程中，需要考虑各种相关因素，根据每种试剂（包括标准物质、质控品、内标物、溶剂、缓冲液、和衍生剂等）的纯度、兼容性和特定应用的适用性来仔细选择，因为这些因素会直接影响结果的准确性、重现性以及可靠性。标准物质的溯源性和高纯度可以确保定量的准确性以及避免引入可能干扰质谱分析的污染物。使用不同浓度及合适基质的质控品来监测检测系统的性能、测定的准确性并及时发现检测系统的错误。稳定同位素内标物的使用对于样品制备和分析中的变异性的准确定量和校正十分重要。用于样本处理的试剂如蛋白质沉淀或液-液提取的有机溶剂（例如甲醇、乙腈），以及在液质分析中通常使用的流动相（甲醇、乙腈、水和甲酸）建议使用高纯度的试剂或者专门指定为质谱级的溶剂，这样可以在液质分析的过程中尽量减少杂质的存在。这样的原则也同样适用于维持pH 值并提高色谱性能的缓冲液体系，增强液质分析中分析物的保留和分离的离子对试剂，以及用于增强分析物挥发性，稳定性和离子化效率的衍生剂。试剂添加剂的选择同样要考虑到试剂与分析物及质谱仪的兼容性以确保试剂对分析物不会进行化学修饰或降解和对质谱仪正常工作的稳定性产生不利的影响。

6.1.1 校准物质

为了评估测试样品中分析物的浓度，需要通过生成已知量的分析物（浓度）和分析物响应函数（峰面积、峰高或分析物与 IS 面积/高度之比）之间的关系，对分析过程进行校准。

6.1.1.1 校准物质溯源：实验室使用的校准物质应可溯源到较高计量学级别的参考标准，如国家或国际参考物质或参考测量程序。

6.1.1.2 校准物质选择：实验室宜选择具有互换性的基质参考物质作为校准物质；若选择溶液参考物质（或纯品参考物质），应评价其基质效应是否可接受。基质选择时应可能与临床样本相似。

6.1.1.3 校准物质接收：实验室应规定校准物质的接收（或拒收）标准，不符合要求时，应予拒收。

6.1.2 内标物

IS 可以用于补偿回收率的偏差和基质效应，IS 应具有以下特性：内标应选择不存在样本中的非内源性物质；应具有与目标分析物相似的理化特征和相似的色谱保留时间；应避免内标中存在与目标分析物在色谱中可以共同洗脱且具有相同质量数的干扰物，其浓度不能干扰分析物的 LLMI 检测。

内标一般有两种，即结构类似物和稳定同位素标记物。目标分析物和结构类似物内标之间不应发生质谱峰重叠现象，若使用稳定同位素标记物更佳。

一般可选择内标的相对分子质量比分析物至少大 3，内标物化学纯度宜 $\geq 98\%$ ，同位素标记纯度宜 $\geq 97\%$ 。必要时应对内标物的纯度（化学纯度及标记纯度）进行测试。而与 ^{13}C 相比，氘原子 (^2H) 在质谱仪反应中可发生气 (^1H) - 氘 (^2H) 交换，也会表现出同目标分析物的保留时间不一致的现象，即氘-标记的同位素效应。因此优选化学性质更稳定的同位素内标，如 ^{13}C 标记的内标物。

6.1.3 质控物的选择

6.1.3.1 基质选择

选择质控品时需注意基质与待测样本相似或相同，具有较好的均匀性和稳定性。

6.1.3.2 浓度选择

液相色谱-串联质谱方法往往一次检测可分析多种待测分析物，因此同一种质控品中应包括每种分析物的合适的浓度；每个分析物应至少包含 2 个浓度水平的质控物，且其浓度应位于临床有意义的浓度范围内；使用说明书上的原靶值仅做参考，实验室应重新累积靶值。

6.1.3.3 精密度质控品

可使用商品化试剂配套质控物或自配质控物，推荐定期使用第三方质控品以识别系统误差；若实验室自配质控物，应做好相关配制记录，评估均匀性、稳定性以及安全性。

6.1.3.4 正确度质控品

推荐定期测定互换性良好的有证参考物质，以监测实验室检测结果的正确度，测定结果同认定值的偏倚应小于 $1/2 \text{ TEa}$ 或实验室设定的质量目标。

6.1.4 常用化学试剂

6.1.3.1 水应满足 GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法规定中的一级水。

6.1.3.2 用于样本前处理环节的试剂应是分析纯或纯度更高的试剂，且应避免试剂干扰。

6.1.3.3 溶剂应是色谱级的产品或质量相当或纯度更高的产品。它们不应干扰所使用的检测器性能。

6.1.3.4 气体应是高纯的惰性气体，如氮气、氩气等，并符合有关规定。

6.1.5 商品化试剂

开展检测项目应优先选择获得医疗器械注册证的商品化试剂盒。按照常规试剂盒管理，建立购买、验收入库、贮存和使用的SOP，并有准确的入库、保存、使用和有效期记录；应该在预开展本项目的仪器上论证试剂盒的系统适用性，方法学评价包括但不限于正确度、精密度、线性范围等。新批号试剂使用之前，应与旧批号试剂进行比对，保证新旧批号试剂检测结果的一致性。

实验室在开展检测项目时，应优先选择获得国家医疗器械二类或三类注册证的检测试剂盒，在无上市产品选择的情况下，可考虑一类试剂的使用。

6.2 耗材选择

各环节所涉及的所有耗材（如离心管、固相萃取板、磁珠、色谱柱、枪头、96孔板等）应当建立购买、验收入库、贮存和使用的SOP，对性能相关的关键耗材必须进行来料检。根据耗材对性能影响的重要性可以把耗材分为一般耗材和关键耗材两种。对于这两类耗材需要建立相应的验收指标。

1.2.1 一般耗材

包括离心管、枪头等。重点考察对待测物的吸附和干扰。

1.2.2 关键耗材

包括固相萃取板、磁珠、色谱柱、96孔上样板等。

6.2.2.1 固相萃取板：重点考察干扰、孔间及批间回收率差异、精密度和准确度。

6.2.2.2 磁珠：重点考察干扰、批次间回收率差异、精密度和准确度。

6.2.2.3 色谱柱：重点考察柱效、分离度、待测物响应。

6.2.2.4 96孔上样板：重点考察对待测物的吸附和24h放置稳定性。

1.2.3 配置容器

常见的有塑料烧杯和玻璃烧杯。用于试剂配置前需要重点考察容器是否有吸附性，配置过程中是否有溶出现象或引入额外的干扰。例如水溶性维生素B采用玻璃容器配置时会有非特异性吸附现象，因此建议使用塑料容器进行配置。

1.2.4 内包材

主要指和试剂直接接触的内包材，比如试剂瓶等。重点考察对待测物的吸附、干扰，不同批次间时的待测物的回收率是否在可接受范围内（85%–115%），长期放置稳定性，若冷冻保存，则需要考察冻融稳定性。

设备

7.1 设备选择

根据开展的检测项目及分析质量要求,选择配备合适的液相色谱-串联质谱仪,及必要的辅助设备,包括但不限于以下辅助设备:自动化样品前处理系统、离心机、去离子水制备系统(或等同级别的纯水系统)、冰箱、微量移液器、电子天平、烘箱、氮吹仪、震压仪、涡旋混匀仪、振荡器、磁珠提取仪、氮气发生器。

同时应按照要求建立并维护设备档案。

7.2 校准与检测检定

7.2.1 液相色谱-串联质谱仪应根据 JJF1317-2011 液相色谱-质谱联用仪校准规范进行校准。

7.2.2 辅助设备,如微量移液器、电子天平、烘箱等影响检测结果的设备均需按照国家计量标准及时进行检定或校准,同时根据厂家说明书或建议进行维护。

7.3 检测设备的维护

质量校准和调谐应每六个月或根据制造商的建议频率进行维护。如果质量校准不稳定,则应更频繁地进行质量校准和调谐。每个实验室必须建立质量校准/调谐的最小频率,以及允许的总离子数、离子强度、峰值分辨率和质量位移的可接受标准。在重大维护、环境变化、仪器故障或仪器真空损坏后,应进行质量校准和调谐。

液相色谱-串联质谱法检验的方法开发与确认

8.1 通用要求

采用非标准的方法、实验室自建方法、超出预定范围使用的标准方法及修改过的确认方法开展分析物临床检测前,应对检验方法进行确认。在临床应用前,实验室应对采用未加修改而使用的已确认的检验程序(如未加修改的商品试剂盒方法)进行独立验证。

方法确认应包括精密度、正确度、线性范围、可报告范围、定量限、干扰、基质效应、参考范围、携带污染和稳定性(样品稳定性,质控品和标准品稳定性,样品待机稳定性)。

方法验证至少应包括精密度、正确度、线性范围。

8.2 方法开发

8.2.1 液相方法

色谱柱、流动相和保留时间都是影响检测结果准确性的关键因素。根据化合物特性，筛选出合适的色谱柱和流动相，考察不同色谱条件对分离度、色谱峰形和质谱响应的影响。应注意流动相的比例，流速，柱温，进样量，样本在色谱仪样本盘中的保温时间等对分析结果的影响，

8.2.2 质谱方法

用针泵连续进样的方式，手动建立或自动优化MRM定量分析的质谱参数。质谱的电离方式、离子源温度、去簇电压（DP）、碰撞能（CE）对分析物的响应强度影响较大，需对这些参数分别寻优，使化合物的信号灵敏度最高，且稳定性良好。

8.2.3 样品前处理方法

样品前处理方法的选择应综合考虑目标分析物的浓度水平、理化性质、样品的基质类型、仪器的灵敏度和抗干扰能力等实际情况。按照原理不同，样品前处理方法可分为稀释法、蛋白沉淀法、萃取法、超滤浓缩法、免疫亲和提取等。按照目标分析物在样品前处理过程中是否发生化学修饰，可分为衍生法和非衍生法。

8.2.3.1 稀释法（dilution method, DM）

采用与LC-MS/MS兼容的样品稀释溶剂对样品进行稀释。稀释法是最简单的样品前处理方法，兼容性比较强，目标分析物回收率高，具有操作简单快速、样本完整性好、成本低等优点，缺点是选择性差。推荐待测物浓度高且基质成分简单的体液样本（尿液、泪液、脑脊液等）采用稀释法。

8.2.3.2 蛋白沉淀法（protein precipitation, PP）

使用物理、化学、生物等手段使蛋白质凝结成块，常用的方法有有机试剂、中性高浓度盐、酸、部分金属盐。蛋白沉淀适用于小分子目标化合物。该样品前处理方法，简单、快速、适用于自动化和半自动化操作；但对于内源性的小分子无选择性，如色谱分离条件不恰当，质谱离子化效率可能会受到影响，基质效应也会比较明显，且样品浓度被稀释。对于含有丰富可溶性蛋白的血清、血浆和全血样本，测定小分子化合物时推荐采用蛋白沉淀法。

8.2.3.3 萃取法（extraction method, EM）

包括常规萃取法（routine extraction, RE）、液液萃取法（liquid-liquid extraction, LLE）、固液支撑萃取法（supported liquid extraction, SLE）、固相萃取法（solid phase extraction, SPE）。根据待测物的不同理化性质和极性特征，实验室可以采用适当的萃取方式对待测物和基质其他成分进行

分离，并综合干扰物分离难度选择合适的萃取载体，从常规萃取（干血斑）、液液萃取、固液萃取到固相萃取，样本的净化能力递增。

8.2.3.4 磁珠法 (magnetic bead extraction, MBE)

磁珠法是近两年涌现出来的新技术，其主要原理是在磁性材料表面包被固定相，在固定相上进行相应的官能团修饰，根据磁珠抓取物质的类别分为两类：一类为吸附目标分析物的磁珠，称为富集磁珠；一类为吸附样品中的杂质的磁珠，称为净化磁珠。净化磁珠的原理为磁珠与蛋白沉淀物理结合以及静电吸附和配位结合，从而达到净化样品的作用。富集磁珠的原理同SPE方法相同，但与SPE相比，灵活度更高，成本较低，解决了SPE筛板堵塞的问题，其操作简单，可实现全自动化。

8.2.3.5 超滤法 (ultrafiltration, UF)

使用滤膜过滤器或超滤离心管等装置，利用过滤拦截的原理，根据分子大小，选择性保留或者滤过溶液中的成分。超滤也可用于生物大分子的浓缩、纯化、脱盐等。超滤适合游离型（非结合）的小分子目标化合物的分析，但超滤法成本相对较高。在使用超滤法时，应注意超滤的速率。超滤膜的孔径应该低于结合目标化合物的蛋白质的分子量，孔径过大则杂质过高，不能充分分离，孔径过小则有效成分通透率较低，损失较大。超滤过程中，另外，应控制超滤的条件和时间，如生理条件（37 °C、pH 7.4）和低至中等的离心力。

8.2.3.6 平衡透析 (equilibrium dialysis, ED)

平衡透析是一种浓度驱动的分选技术。该技术允许低分子量溶质通过合成聚合物或纤维素制成的半透膜从高分子中扩散分离出来。在透析过程中，要求使用生化成分尽可能接近血清/血浆离子环境的透析缓冲液；透析前将样品缓冲至pH值为7.4，温度为37 °C，半透膜血清侧游离激素与膜缓冲侧激素之间形成浓度梯度，最终达到平衡。PH值和温度对于结合态激素和游离激素的平衡至关重要，应在合适的pH值和温度下进行透析操作。建议使用生化成分尽可能与血清/血浆离子环境接近的透析缓冲液。实验室应控制适当的缓冲液条件（如37 °C、pH 7.4）。

8.2.3.7 免疫亲和提取 (immunoaffinity extraction, IAE)

免疫亲和提取利用抗原和抗体间特异性分子识别的原理，使目标分析物得到富集。该方法可提高LC-MS/MS方法的检测灵敏度和特异性，其检测下限可达到pg/ml的水平。免疫亲和提取中的亲和柱需要平衡至室温，再进行样本提取；对于超过亲和柱载量的样本，需要减少上样体积进行检测。

8.2.3.8 衍生法 (derivatization method, DM)

衍生化技术是通过化学反应将样品中难以分析检测的目标化合物定量的转化成另一易于分析检测的化合物，通过后者的分析检测可以对目标化合物进行定性和（或）定量分析。衍生化的目的包括改善

离子化效率，从而提高质谱检测的灵敏度；改善分离度，提升化合物在色谱上的保留能力；增强化合物的稳定性等。

8.2.4 线性范围的选择

分析检测范围主要取决于临床需求，因此实验室应在咨询临床医生后根据临床决定点、方法的 LLMI 和 ULMI 来综合评估并选择线性范围，建议根据线性范围选择 4-6 个浓度点。

8.2.5 质控品浓度的选择

QC 浓度设置时应结合考虑临床医学决定点，以帮助检测临床显著的错误。理想情况下，QC 浓度应覆盖整个分析测量间隔，包括分析 ULMI 和 LLMI 附近的覆盖范围，建议 2-3 个浓度点，涵盖正常和异常浓度点。

8.3 方法确认

一种分析方法的性能要求将由该方法的预期用途来决定。如果将在不同的临床相关浓度范围内测量多个分析物，则必须评估每个分析物的分析性能，以确保该方法足以用于所有分析物的分析。

8.3.1 定量限

LoD (Lower Limit of Detection)，检测限是指检测方法在规定的实验条件下所能检出分析物的最低浓度，要求信噪比至少 3: 1。LoD 仅用于辅助确定 LLMI，不建议报告低于 LLMI 的结果。

LLMI (Lower Limit of the Measuring Interval)，定量下限是在满足实验室对精密度和准确度要求的前提下，检测方法在规定的实验条件下所能够准确定量检测分析物的最低浓度或最低量。LLMI 确认实验要求 3-5 个接近于 LoD 的样本，每个样本重复检测至少 10 次。LLMI 和理论值偏差应在 $\pm 15\%$ 范围内，即实测值在理论值的 85-115% 范围内；CV 应 $< 20\%$ 。

8.3.2 线性

线性范围为临床定量检测方法可检测的范围，即定量范围。建议选取至少 5 个浓度水平，配制基质适宜的标准品（建议与样本基质一致）用于制作标准曲线。线性评估过程中，每个浓度点重复测定 2~4 次，使用多元回归方程评价线性，记录线性方程和相关系数。对于出现的非线性的浓度点，需要评估对临床重要性的影响。标准曲线的配制过程应避免逐级稀释，以规避可能由移液器导致的系统偏差。

8.3.3 精密度

精密度即为目标分析物测定的批内重复性和批间重现性。进行精密度验证的样本应能够代表临床样本的特性（如血清样本），优选采用稳定的混合临床样本；必要时，可以购买商品化质控品。质控浓度设定须在分析方法线性范围内并涵盖临床决定点浓度，选择至少低、高两个不同浓度的质控品。评价批内不精密度，每个浓度至少测定 5 次。评价批间不精密度，应在不同批连续制备并测定至少 3 个分析批

次（三个浓度总共不少于 45 个检测值）。如果高、低质控品超出方法线性范围，可以通过稀释或者添加的方式进行浓度调整并对响应潜在的基质效应进行评估。除 LLMI 样本之外，各浓度不精密度验证的 CV 需 $\leq 15\%$ ，LLMI 浓度 CV $\leq 20\%$ 。

8.3.4 正确度

正确度反映方法系统误差，衡量检测结果与“真值”之间的吻合程度。正确度可以通过回收率测定、方法间比较、检测具有互换性的有证参考物质或者可接受的替代品来进行评估。用于正确度评估的样本类型优先顺序如下：患者样本 $>$ 混合患者样本 $>$ QC 血清样本 $>$ 非生物基质水溶液。正确度评估结果应满足生物学变异或临床指南的要求。

8.3.4.1 与参考方法比对

选用至少 40 例样本，优选临床患者样本，与更高级别的参考方法进行比对。样本应覆盖方法线性范围并来自目标检测人群。在无可供比对的参考方法时，方法间的结果差异不能表示偏倚，仅供不同方法参考区间转化参考。

8.3.4.2 检测参考物质

可以通过分析具有互换性的有证参考物质或者可接受的替代品来评估方法的正确度。检测物质应来源于权威机构（如 NIST、JCTLM 等）或经参考方法赋值的室间质评样本。建议每个样本进行 3-5 批次检测，每批次重复检测。

8.3.4.3 加标回收实验

如参考物质不易获得或无参考方法，可采用加标回收的方法来评估正确度，如果加标回收检测值均在理论靶值 $\pm 15\%$ 内，则证明建立的 LC-MS/MS 方法的正确度符合要求。将以向 QC 或者患者样本中添加线性范围内三个不同浓度水平，进行至少五次复测。

8.3.5 干扰

尽管 LC-MS/MS 技术在特异性和选择性上优于其他检测技术，但其仍会受到其它物质的干扰，比如样本基质中的同分异构体、其它代谢物、补充剂、样本抗凝剂、促凝剂等。因此，在 LC-MS/MS 方法用于临床检测之前，建议对临床样本常见干扰因素进行试验（特异性或选择性）研究，通常做法是在临床样本中加入已知的高浓度的潜在干扰物质进行干扰评估。

另外可以通过离子丰度比值来监控是否存在潜在可对检测结果构成影响的未知干扰物。计算标曲中的平均离子丰度比并在方法确认阶段确定临床样本离子丰度比的可接受标准。一般来说样本中的离子丰度比与标曲中离子丰度比的偏差应 $\leq 20\%$ ，超出范围提示存在潜在干扰。

8.3.6 可报告范围

可报告范围是指对临床诊断、治疗有意义的待测物浓度范围，对于浓度超出定量范围的样本可进行

稀释等预处理使待测物浓度处于 AMR 内进行测量。

可报告区间的下限的确定与测量系统的检出能力有关，即为 LLMI，可报告区间的上限的确定与线性区间有关，为 CRR 上限（AMR 上限×最大稀释倍数）。建立试验方法时，必须对相应的稀释方法进行不精密度和回收率评估。回收率用于评估稀释基质的适用性和最大稀释比。稀释一致性评价要求每个稀释浓度至少单独制备 5 个样本，并使用已建立的定量方法检测每个样本。在浓度大于 3 倍 LLMI 时，回收率为 $100 \pm 15\%$ $CV < 15\%$ 视为可接受。如回收率超过这个标准提示稀释过度、稀释基质不合适和/或稀释引入基质效应。稀释的回收率和精密度的可接受标准可以根据临床具体应用进行调整。

8.3.4.1 定量范围以内稀释

分析物浓度在定量范围内的样本可能需要进行稀释(如需要对样本受到的离子抑制或增强进行部分校正)。样本提取后，对提取液进行稀释，然后进行测定。应注意避免稀释后分析物浓度小于 3 倍 LLMI，因分析物浓度接近 LLMI 时，稀释引入的误差将大于 LLMI 的标准允许误差的 20%，方法准确性无法评价。

8.3.4.2 定量范围以外稀释

当分析物浓度大于 ULMI 时必须进行稀释。同样一般对样本提取液进行稀释然后检测。在这种情况下，稀释液应含有与稀释前样本提取液浓度相同的 IS。稀释后的分析物浓度仍在定量范围外时，应报告为“超出检测范围”。必要时需做好标注。

8.3.4.3 小体积样本稀释

小体积的样本（如婴幼儿通常只能采到 $25 \mu\text{L} \sim 50 \mu\text{L}$ 的血清）可能需要稀释，以达到最小分析体积的要求，确保报告结果的准确性和精密度。此类样本可能来源于不同生理状态或复杂疾病状态的人群，与标准检测样本相比表现出特有的基质差异，可能需要采用完全不同的稀释基质。

对于小体积样本，通常对原始样本进行稀释，以使样本体积达到最小分析体积的要求。这种稀释需要仔细记录样本和稀释液的体积以计算分析物浓度。同样应注意避免稀释后分析物浓度小于 3 倍 LLMI。如果分析物浓度稀释后小于 3 倍 LLMI，而所有原始样本已用完时，需要将基质类似特性明确的标准品和/或质控品使用相同方法稀释至浓度在 LLMI 和 3 倍 LLMI 之间，然后进行检测以明确样本检测结果是否可接受。

8.3.7 基质效应

基质效应可能会对分析产生一般性或样本特异性的影响，例如由离子抑制效应引起灵敏度或离子化效率的降低，或者由干扰峰导致结果的不准确，因此评估基质效应是 LC-MS/MS 方法验证的关键组成部分。应分别评估每个离子通道（包括 IS）的基质效应。评估基质效应的影响程度时应当借鉴方法 TEa，TEa 包括不精密度、偏移和干扰。

基质效应的评价可以采用以下几种方法：

样本处理后加入法：一般建议比较两个浓度、至少各 5 个病人样本基质和纯溶剂（如流动相），萃

取后加入相同的标准品和 IS，比较天然基质与纯溶剂的信号比值来评价基质效应。基质效应的 CV 应 <15%。标准曲线和分析物的基质不同时，建议进行基质效应评估。若由于基质效应而引起的离子抑制或离子增强差异过大，可以使用标准品与 IS 的响应比值用于计算经 IS 校准的基质偏倚，在此情况下，实验室需要考虑基质效应导致的方法学灵敏度变化。样本处理后加入法不能反馈提取效率的信息。

基质混合实验：将不同的原生基质样本按照不同的比例进行混合制备混合基质效应样本，并对混合基质效应样本进行定量检测，计算检测值与理论值的偏倚。此考察方案不能评估由于基质效应引起的离子一致。可以通过将原生基质与无基质溶液混合来评估基质效应引致的离子抑制情况。

	基质 A (%)	基质 B (%)
基质效应样本 1	100	0
基质效应样本 2	80	20
基质效应样本 3	50	50
基质效应样本 4	20	80
基质效应样本 5	0	100

柱后灌注：将含有目标分析物的溶液在色谱柱之后、质谱之前，以恒定的速度泵入质谱仪，再将处理过的空白基质样本注入质谱仪，液相色谱运行时使质谱仪持续采集数据。经过一段时间，分析物在进样时会显示出一段基线响应，若在分析物应该被洗脱的梯度区域内出现明显的基质抑制或增强，说明存在基质效应。比较有无注射提取后样本情况下所获得的待测物信号可以用来定量评估监测的离子转变的基质效应。

8.3.8 携带污染

LC-MS 是由连续流路组成，这种一体化的检测系统会增加高浓度样本残留风险。目前，尚无临床指南设定 LC-MS 的允许残留标准，但携带污染不应影响检测准确性或精密度产生显著影响。携带污染评估应选取高低浓度样本，按照不同的组合进样，高-低值转换样本均值与低-低值转换样本均值的差小于低-低值转换样本的 3SD。根据 FDA 指导建议，应当在分析高浓度的样本之后立刻进样一份或多份空白样本，以评估残留情况。无论同一次运行的其它样本中分析物的浓度如何，分析空白样本时的检测器信号都应该远低于 LLMI。如果携带污染大于规定标准，建议减少进样量并降低最高标准曲线浓度。对未知样本在浓度高于最高标准曲线浓度样本之后进样的结果需要重新分析。

8.3.9 稳定性

8.3.9.1 样本稳定性

样本的稳定性受限于多种影响因素，应评估在各种基质效应、环境和储存、容器等条件下的样本稳定性。需要实验室对每个分析物进行稳定性研究。建议用 ≥ 3 等份的低和高浓度进行冻融稳定性实验，评估短期温度稳定性，长期稳定性，储备液稳定性和制备后稳定性（即自动进样器中的时间）。

9.3.9.1.1 质控品稳定性

须评估实验室的自配质控品样本的储存条件和稳定性。质控品存储不当或降解对于临床应用是不能接受的。

9.3.9.1.2 内标稳定性

实验室须评估自配或商品化内标的稳定性和纯度，保证检测结果的稳定可靠。

8.3.10 参考区间

建议实验室对自行开展的项目，使用经过评估性能满足要求（线性、精密度、正确度、溯源性等）的检测系统，测定样本以进行参考区间建立或者引用其他机构参考区间并验证其是否通用。

对引用参考区间的验证，需根据项目特点，小样本验证每个参考区间选择至少 20 例样本。若 20 个检测值中超出原始参考区间的不超过 2 个，验证通过；若 3 个及 3 个以上的测定值超出，需重新筛选 20 人并重复上述操作，若不超过 2 个测定值超出改参考区间，则验证通过，否则实验室应仔细检查分析测量程序，并考虑两个人群是否存在生物学特征上的差异以及是否需要建立自己的参考区间。

对于某些重要项目的参考区间验证，实验室可加大参考个体的样本量（ $n=60$ ），将其测得值与参考区间的原始参考值相比较。若无显著性差异，可以、接受既有参考区间；若有差异，实验室可以增加参考个体的样本量达到 IFCC 制定参考区间最少样本量的要求，建立参考区间；或者利用稳健法，直接利用 60 名参考个体所提供的参考值计算参考区间。

若自建参考区间，则根据项目特点，按事先规定好的标准从参考人群中筛选出表观健康的参考个体，组成代表性的参考样本组，样本量至少 120 例，若需要按性别、年龄等因素分组，则每组样本量至少 120 例。对样本进行检测并对结果进行统计分析，得出参考区间。

液相色谱-串联质谱法检验过程核心要素

9.1 检验前过程

9.1.1 通用要求

应充分考虑样本类型、采血体位、采集、运输、储存等因素对检测结果的影响。

9.1.2 原始样本采集和处理

实验室可根据不同样本类型分别参照 WST 661-2020 静脉血液标本采集指南及 WS_T 348-2011 尿液标本的收集及处理指南分别进行静脉血或者尿液样本采集、血清分离和血样的保存。同时也应考虑样本采集设备和容器、样本稳定性等因素对检测的影响。

实验室应制定采集和处理原始样品的程序，规定不同检测项目所需的样品类型、样品体积、采集器械、保存剂及保存时间的要求，应向样品采集者提供相关信息和指导。

9.1.3 样本稳定性

应针对检测项目的特点，充分研究确定其在体外的稳定性，包括采集、离心和保存条件。

9.1.3.1 标本采集

9.1.3.1.1 血液或尿液标本的采集：采集方法依据依据WS/T225以及检测方法的要求进行采集。

9.1.3.1.1 样本采集管：根据所需样本类型，使用不同样本采集管采集与分装。

9.1.3.2 保存

首先确认检测项目在样本中的稳定性，参考8.3.9 稳定性进行考察，确定最佳条件，包括避光条件、离心时间、保存温度和时间、保存剂等。

9.1.3.3 运输

应避免由于运输不当造成对检测的影响。

9.2 检验过程

9.2.1 通用要求

实验室应选择预期用途经过确认的检验程序，应记录检验过程中从事操作活动的人员身份。每一检验程序的规定要求（性能特征）应与该检验的预期用途相关。

9.2.2 检验方法建立

9.2.2.1 样本前处理方法

应根据实验室 LDT 方法 SOP 或商品化试剂说明书进行操作。实验室应注意前处理过程可能产生的挥发性气体、发热、噪音等污染，配备良好的通风、散热或者隔音设备。有条件的实验室可以设置独立的前处理区域，与仪器区分离开，降低对其他仪器和人员的干扰。实验室应对环境中影响检测结果的微生物污染、灰尘、电磁干扰、湿度、供电、温度、声音和振动等进行评估并设定相应要求。

9.2.2.2 液相色谱-串联质谱方法（参考CL62A）

9.2.2.2.1 色谱柱平衡

色谱柱类型及填料量的不同，所需平衡时间也不同，通常为 10 倍色谱柱体积的流动相。可采用流动相梯度洗脱程序的初始浓度冲洗色谱柱至柱压稳定。

9.2.2.2.2 系统适用性

仪器达到平衡状态之后，至少分析 3 次系统适用性溶液，该系统适用性溶液可采用标品和内标的混合溶液。3 次进样结果中目标分析物保留时间的偏差应在 $\pm 0.2 \text{ min}$ 范围内，内标峰面积与仪器正常状态的累积靶值偏差应在 $\pm 20\%$ 以内，且三次进样峰面积 $\text{CV} \leq 15.0\%$ 。测试失败可能表明仪器系统性能存在问题，应进行检查。

9.2.2.2.3 液相色谱-串联质谱仪参数设置

a) 色谱条件

根据化合物特性，筛选出合适的色谱柱和流动相，考察不同色谱条件对分离度、色谱峰形和质谱响应的影响。应注意流动相的比例，流速，柱温，进样量，样本在色谱仪样本盘中的保温时间等对分析结果的影响。

b) 质谱条件

采用针泵连续进样的方式，手动建立或自动优化MRM定量分析的质谱参数。质谱的电离方式、离子源温度、去簇电压（DP）、碰撞能（CE）对分析物的响应强度影响较大，需对这些参数分别寻优，使化合物的信号灵敏度最高，且稳定性良好。

9.2.2.2.4 工作曲线建立

分别取校准物质浓度由低至高进行测定，每次测定均加入浓度相同的内标液进行测定。以标准曲线样品的标示浓度为横坐标（x），以标准曲线样品的实际检测峰面积与各自内标峰面积的比值为纵坐标（y）绘制标准曲线，进行线性回归（ $r^2 \geq 0.990$ ）。在每个分析批的前后各进行一次标准物质和质控物的检测，允许 LOQ 的检测浓度在靶值浓度的 80.0%-120.0%之间，其余样品的检测浓度在靶值的 85.0%-115.0%之间，标准曲线样品和质控样品浓度水平不能被移除。

9.2.2.2.5 结果计算

处理后的样本在9.2.2.2.3的色谱和质谱条件下进行上机分析。待测样品的检测结果应在标准曲线的线性范围内，超过线性范围时则应适当稀释样品后再重复处理测定。

9.2.3 检验方法验证（Verification）

在被应用于临床检测前，任何一种质谱方法都需要进行方法学验证。验证的过程中，方法可靠性需要充分评估各种微小变化的影响，如果方法的性能发生显著变化则要求方法重新优化并重复方法学验证，包括实验室自建方法、商品化试剂的首次使用、实验室内部检测同型号设备方法转移等。

9.3.2.1 LoD 和 LLMI

见8.3.1 定量限。

9.3.2.2 线性

见8.3.2 线性。

9.3.2.3 精密度

见8.3.3 精密度。

9.3.2.4 正确度

见8.3.4 正确度。

9.3.2.5 干扰

见8.3.5 干扰。

9.3.2.6 稀释一致性

见8.3.6 可报告范围。

9.3.2.7 稳定性

见8.3.7 稳定性。

9.3.2.8 仪器、人员间交互认证

如果一个已完成认证的试验方法转移到同类型仪器或者不同操作者进行样品分析， 必须进行仪器间或人员间交互认证 3 个批次。 交互认证需要包括仪器交叉污染， 批间， 批内精确度和准确度。

9.3.2.9 认证报告文件

认证报告需要包括：所用仪器， 耗材， 标品， QC 样品信息， 具体试验方法步骤， 液相质谱方法， 实验方法认证每一部分的结果以及结论以及原始数据保存记录。

9.3.2.10 LDT实验方法的执行

实验室主任 (lab director) 需要签字许可新的试验方法认证报告， 新方法的执行。

	LDT/一类试剂开发 及应用	二类试剂 开发	二类试剂首 次应用	方法学实验室内 部转移	人员间方法 转移
LoD 和 LLMI	√	√	√	√	√
线性	√	√	√	√	√
精密度	√	√	√	√	√
正确度	√	√	√	√	√
干扰	√	√	√	√	/
稀释一致性	√	√	/	/	/
样品稳定性	√	√	/	/	/
仪器间， 人员间交 互认证	√	√	√	√	√
认证报告文件及记 录	√	√	√	√	√

表 1-1 不同情况下的验证内容

9.2.4 参考区间

实验室应按照WS/T 402 进行参考区间的建立或验证并做出文件化规定。当特定的生物参考区间或决定值不再适用服务的人群时，应进行适宜的改变并通知用户。如果改变检验程序或检验前程序，实验室应评审相关的参考区间和临床决定值（适用时）。

9.2.5 检验结果有效性的保证

为了保证检验结果的有效性，LC-MS/MS 的实验室质量管理体系必须涉及整个检测流程，同时应符合 WS/T 641 的规定。

9.2.5.1 室内质量控制

9.2.5.1.1 总体要求

LC-MS/MS 方法可以采用如稀释、衍生化、水解、提取等前处理方法后定量，为了使室内质量控制充分监测整个检测环节，应要求质控品与样本的操作步骤基本一致，即应经过相同的前处理环节、LC-MS/MS 检测过程以及数据处理过程。

9.2.5.1.2 质控均值

在开始室内质量控制时，首先要设定质控品的均值。各实验室应对新批号的质控品的各个分析物自行确定均值。均值必须在实验室内使用自己现行的检验程序进行确定。定值质控品的标定值只能作为确定均值的参考。

9.2.5.1.3 质控控制限

控制限通常是以标准差的倍数表示。

要求应考虑到该方法的预期用途，并可能基于允许总误差（TEa）限制、预期的生物学变异或与医疗使用结果相关的风险来设置控制限。

日常使用中的质控品 CV 一般控制在 1/3 允许总误差（TEa）以内，不同分析物的 TEa 可参考生物学变异导出的 TEa 标准或国家卫健委临床检验中心室间质评标准。

9.2.5.1.4 质控频率

应在每个分析批内至少对质控品检测 2 次。若 1 个分析批内待测样本检测周期长，则应确保每 24 小时至少检测一组 QC 浓度。

9.2.5.1.5 质控规则

应结合检测项目的情况以及 WS/T 641 的规定设计最佳实践，至少采用 2 个质控规则，以检出随机误差和系统误差。

9.2.5.1.6 质控图

根据质控品的均值和控制限绘制 Levey-Jennings 质控图, 或将不同浓度水平绘制在同一图上的 Z-分数图, 或 Youden 图。每批质控原始数据可体现在质控图上。

9.2.5.1.7 更换质控品

拟更换新批号的质控品时, 应在“旧”批号质控品使用结束前, 新批号的质控品应与“旧”批号质控品一起测定, 从而设立新的均值和控制限。

9.2.5.1.8 失控处理

对同一个项目内不同分析物进行具体分析, 如:

- a) 无直接相关性的分析物间, 一种分析物的质控失控时针对该质控进行分析, 通常不需要拒绝在分析方法中测量的其他分析物。
- b) 若存在相关性的分析物(如需根据原药和代谢物加和来判断用药浓度时), 该药物或其任何代谢物的质控失控时, 则应拒绝所有结果。

同时应按照 WS/T 641 的规定进行失控原因分析及处理。

9.2.5.2 室间质评

应按时参加室间质量评价活动, 符合 WS/T 644 中第 4 条对室间质量评价参加者的要求。推荐参加正确度验证的室间质量评价(EQA)计划, 以评价实验室检测结果的正确度。

9.2.5.3 实验室间比对

当无实验室间比对计划可利用时, 实验室应根据 WS/T 415《无室间质量评价时实验室检测评估方法》采取其他方案并提供客观证据确定检验结果的可接受性。

9.2.5.3 其他质量控制指标

- (1) 双空白: 即不加内标、不加待测物标样的样品。在系统适用性符合的情况下宜检测双空白溶液, 对应分析物和内标的出峰时间处若无干扰, 则可继续进行下一步的检测。
- (2) 单空白: 即加内标、不加待测物标样的样品。在系统适用性符合的情况下宜检测单空白溶液, 对应检测分析物的出峰时间处无干扰, 则可确定在用内标是可用的。
- (3) 标准曲线: 每批检测样品中宜同步进行标准曲线的检测, 并监测标准曲线相关参数, 相关系数 R 宜 ≥ 0.99 。
- (4) 内标稳定性: 内标是质谱法定量环节中非常关键的一个步骤。每个批次在定量计算前需要分析这些样品中的内标响应是否稳定。

9.3 检验后

9.3.1 结果报告

根据 GB/T 22576.1-2018, ISO 15189: 2012, IDT 中的“5.9 结果发布”部分进行检测结果的报告发布, 报告前可综合评估以下因素: 质控是否在控, 与此前结果是否一致, 样品质量等因素进行综合考量。

9.3.2 检验后样本的处理

样品的安全处置应符合地方法规或有关废物管理的建议。

参考文献

- [1] 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.
- [2] 中国医师协会检验医师分会临床质谱检验医学专业委员会. 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.
- [3] 中国老年保健医学研究会检验医学分会中国老年医学学会检验医学分会. 液相色谱-串联质谱法检测 25-羟维生素 D 标准化专家共识[J]. 中华检验医学杂志, 2021, 44(7): 587-595.
- [4] Lynch KL. CLSI C62-A: a new standard for clinical mass spectrometry[J]. Clin Chem, 2016, 62(1): 24-29.
- [5] 中华医学会检验医学分会临床生化检验学组, 中国医学装备协会检验医学分会. 医疗机构临床质谱实验室建设共识 [J]. 中华检验医学杂志, 2023, 46(8): 783-791. DOI: 10.3760/cma.j.cn114452-20221122-00696.
- [6] 中国医疗保健国际交流促进会基层检验技术标准化分会, 中国医院协会临床检验专业委员会. 液相色谱-串联质谱法临床样品前处理专家共识 [J]. 中华预防医学杂志, 2023, 57(12): 2073-2085. DOI: 10.3760/cma.j.cn112150-20230906-00160.
- [7] 中华人民共和国环境保护部. <http://www.zhb.gov.cn/>
- [8] CLSI. Prelimin in the clinical laboratory: general principles and guidance; approved guideline. CLSI document C50-A. Wayne, PA: clinical and laboratory standards institute; 2007
- [9] CLSI. Liquid chromatography-mass spectrometry methods; approved guideline. CLSI document C62-A. Wayne, PA: clinical and laboratory standards institute, 2014
- [10] CLSI. Laboratory instrument implementation, verification and maintainance; Approved guideline. CLSI document GP-31A. Wayne, PA: clinical and laboratory standards institute, 2009
- [11] CLSI. Preliminary evaluation of quantitative clinical laboratory measurement procedures; Approved

- guideline-third edition. CLSI document EP10-A3-AMD. Wayne, PA: clinical and laboratory standards institute, 2014
- [12] Matuszewski BK, Constanzer ML, Chaves-Eng CM. Strategies for the assessment of matrix effect in quantitative bioanalytical methods based on HPLC-MS/MS. *Anal Chem.* 2003;75(13): 3019-3030.
- [13] CLSI. Evaluation of detection capability for clinical laboratory measurement procedures; Approved guideline-second edition. CLSI document EP17-A2. Wayne, PA: clinical and laboratory standards institute, 2012
- [14] CLSI. Evaluation of linearity of quantitative measurement procedures: a statistical approach; Approved guideline. CLSI document EP06-A. Wayne, PA: clinical and laboratory standards institute, 2003
- [15] CLSI. Evaluation of precision of quantitative measurement procedures; Approved guideline-third edition. CLSI document EP05-A3. Wayne, PA: clinical and laboratory standards institute, 2014
- [16] CLSI. Measurement procedure comparison and bias estimation using patient samples; Approved guideline-third edition. CLSI document EP09-A3. Wayne, PA: clinical and laboratory standards institute, 2013
- [17] CLSI. User verification of precision and estimation of bias; Approved guideline-third edition. CLSI document EP15-A3. Wayne, PA: clinical and laboratory standards institute, 2014
- [18] CLSI. Interference Testing in Clinical Chemistry; Approved guideline-second edition. CLSI document EP07-A2. Wayne, PA: clinical and laboratory standards institute, 2005

US department of health and human services, guidance for industry; bioanalytical method validation.<http://www.fda.gov/downloads/drugs/.../guidances/ucm070107.pdf>. Accessed September 30, 2014.
