·论　　著·

液相色谱串联质谱法和电化学发光免疫分析法检测25-羟维生素 D 的一致性评价

赵　柯，任伟丹，刘玉霞，岳文兵，韩雪莹，丁利霞△
郑州金域临床检验中心有限公司，河南郑州 450000

摘　要：目的　比较液相色谱串联质谱法（LC-MS/MS）与电化学发光免疫分析法（ECLIA）检测血清中 25-羟基维生素 D（25（OH）D）结果的相关性和一致性，以期指导临床选择合适的检验方法。**方法**　收集该实验室临床血清标本 94 例，分别用 LC-MS/MS 和 ECLIA 这两种方法检测 25（OH）D。采用 Passing-Boblok 回归分析两种方法的相关性，采用 Bland-Altman 及 Mountain plot 评估两种方法的一致性。以血清 25（OH）D＜20.0 ng/mL 为维生素 D 缺乏，20.0～＜30.0 ng/mL 为维生素 D 不足，使用 Kappa 分析判断两种方法的诊断维生素 D 营养状况的符合率。**结果**　LC-MS/MS 与 ECLIA 检测 25（OH）D 结果分别为（26.67±4.79）ng/mL 和（39.33±4.09）ng/mL，Passing-Bablok 回归分析显示两种方法检测 25（OH）D 浓度的回归方程为 $Y_{ECLIA}=-4.558\ 1+1.719\ 8X_{LC\text{-}MS/MS}$，斜率为 1.719 8（95%*CI* 1.586 3～1.828 4），不包含 1，截距为－4.5581（95%*CI* －7.692 2～－2.122 1），不包含 0，提示两种方法存在系统差异或比例差异。Bland-Altman 图显示两种方法差值的均值为－12.7，界外点数（比率）为 3.19%。山形图的山顶值为－9.17 ng/mL，偏离 0 较多，表明两种方法检测的结果一致性较差。两种方法判断维生素 D 缺乏的 Kappa 系数为 0.875，诊断符合率为 94.68%；两种方法判断维生素 D 不足的 Kappa 系数为 0.538，诊断符合率为 75.53%。**结论**　ECLIA 与 LC-MS/MS 检测结果一致性较差，但依据营养状况诊断维生素 D 缺乏与不足的符合率较高。

关键词：液相色谱串联质谱法；　电化学发光免疫分析法；　25-羟维生素 D
DOI：10.3969/j.issn.1673-4130.2023.24.021　　**中图法分类号：**R446.11
文章编号：1673-4130（2023）24-3050-05　　**文献标志码：**A

Consistency evaluation between liquid chromatography tandem mass spectrometry and Electrochemiluminescence immunoassay in detecting 25-hydroxyvitamin D

ZHAO Ke, REN Weidan, LIU Yuxia, YUE Wenbing, HAN Xueying, DING Lixia△
Zhengzhou Kingmed Clinical Laboratory Inc., Zhengzhou, Henan 450000, *China*

Abstract: Objective　To compare the correlation and consistency of liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) and electrochemiluminescence immunoassay (ECLIA) in the determination of serum 25-hydroxyvitamin D[25 (OH)D], in order to guide the clinical selection of appropriate detection methods. **Methods**　A total of clinical serum samples were collected from the laboratory, and 25(OH)D levels were detected by LC-MS/MS and ECLIA, respectively. Passing-Boblok regression was used to analyze the correlation between the two methods, and Bland-Altman and Mountain plot were used to evaluate the agreement between the two methods. Serum 25(OH)D＜20.0 ng/mL was defined as vitamin D deficiency, and serum 25 (OH)D as 20.0－＜30.0 ng/mL was defined as vitamin D insufficiency. Kappa analysis was used to determine the coincidence rate of the two methods in the diagnosis of vitamin D nutritional status. **Results**　The 25(OH) D levels detected by LC-MS/MS and ECLIA were (26.67±4.79) ng/mL and (39.33±4.09) ng/mL, respectively. The regression equation of the two methods was $Y_{ECLIA}=-4.558\ 1+1.719\ 8X_{LC\text{-}MS/MS}$, the slope was 1.719 8 (95%*CI* 1.586 3－1.828 4), excluded 1, and the intercept was 4.558 1 (95%*CI* －7.692 2－－2.122 1), excluded 0, prompt system difference or ratio differences of the two methods. There were systematic or proportional differences between the two methods. The Bland-Altman figure showed two methods averages was 12.7, and the difference of out points (ratio) was 3.19%. The peak value of the mountain plot was －9.17 ng/mL, with more deviations from 0, indicating poor agreement between the results measured by the two methods. The Kappa coefficient of the two methods for judging vitamin D deficiency was 0.875, and the diagnostic coincidence rate was 94.68%. The Kappa coefficient of the two methods for judging vitamin D in-

作者简介：赵柯，女，主管技师，主要从事临床色谱质谱检验工作研究。　△ **通信作者**，E-mail：labdlx@kingmed.com.cn。

sufficiency was 0.538, and the diagnostic coincidence rate was 75.53%. **Conclusion**　The agreement between ECLIA and LC-MS/MS is poor, but the agreement between ECLIA and LC-MS/MS in the diagnosis of vitamin D deficiency and insufficiency based on nutritional status is high.

Key words: liquid chromatography-tandem mass spectrometry;　electrochemiluminescence immunoassay; 25-hydroxyvitamin D

维生素 D 是一种脂溶性甾体激素前体，主要包括维生素 D_2（麦角钙化醇）、维生素 D_3（胆钙化醇），其主要功能为促进小肠黏膜细胞吸收磷及钙离子，还可减轻炎症反应，调控免疫系统功能及帮助控制血糖水平[1]。25-羟维生素 D[25(OH)D]是维生素 D 在人体内的主要作用形式，其在血液中的浓度较高且半衰期较长，是监测体内维生素 D 水平及营养状况的可靠指标[2]。

随着临床实验室维生素 D 检测的大范围开展，不同检测方法间结果不一致的情况愈来愈多，甚至部分结果差异会影响临床对维生素 D 缺乏的诊断。故本研究使用液相色谱串联质谱法（LC-MS/MS）和电化学发光免疫分析法（ECLIA）这两种方法检测临床血清标本中的 25(OH)D，并对测定结果进行分析和比较，评价这两种方法检测结果的相关性和差异性，以期指导临床选择合适的项目，合理解读这两种方法结果差异的原因。

1　材料与方法

1.1　标本来源　收集本实验室临床血清标本 94 例，分别用 ECLIA 与 LC-MS/MS 两个检测系统检测 25(OH)D 浓度，并对结果相关性进行分析，入组的所有标本均为单纯随机抽样的方法挑选。

1.2　仪器与试剂　LC-20ADXR 液相色谱仪（日本岛津公司）、API3200 质谱仪（美国 AB 公司）、Milli-Q Gradient 超纯水机、默克 Ascentis Express C18（5.0 cm×2.1 mm×2.7 μm）色谱柱、电化学发光免疫分析仪（罗氏 E602）。甲醇、乙腈、正己烷均为色谱纯，购自德国默克公司；甲酸（分析纯）购自广东光华化学厂有限公司；25(OH)D_2 和 25(OH)D_3 标准品、色谱纯购自西格玛中国有限公司；d6-25(OH)D_2 和 d6-25(OH)D_3 内标品购自美国 Medical Isotopes 公司；25(OH)D 检测试剂盒购自罗氏诊断产品有限公司。

1.3　方法　（1）25(OH)D 检测采用 ECLIA：使用电化学发光免疫分析仪和配套试剂盒，依据试剂盒说明书的标准操作流程进行标本的处理和检测。检查仪器清洗液、反应杯、缓冲液等是否足够使用，开机后在仪器试剂盘中加入平衡至室温的相应试剂（避免产生气泡），仪器将自动按照设定程序进行检测。LC-MS/MS，色谱条件：色谱柱柱温 50 ℃；流速：0.55 mL/min；进样量为 40 μL；流动相 A 相为含 0.1%甲酸的去离子水，B 相为含 0.1%甲酸的甲醇，采用梯度洗脱模式。质谱参数：采用正离子电喷雾电离离子化的多反应监测模式，25(OH)D_2 和 25(OH)D_3 定量离子通道质荷比分别为 413.3∶395.4 和 401.3∶383.4；定性离子通道质荷比分别为 413.3∶355.4 和 401.3∶365.4；内标离子通道质荷比分别为 416.3∶398.4 和 407.3∶389.4。离子源温度：550 ℃，离子源电压 5 500 V，气帘气 20，雾化器 55，辅助气 55。实验步骤：吸取 200 μL 血清标本至 2 mL 离心管中，加入 400 μL 的内标工作液[含 50.0 ng/mL 的 d6-25(OH)D_2、50.0 ng/mL 的 d6-25(OH)D_3 及 1.00 μg/mL 雌三醇的乙腈溶液]，充分震荡 5 min，加入 800 μL 正己烷震荡 10 min 后，室温 10 000 r/min 离心 10 min；吸取 700 μL 上清液 60 ℃加热氮气吹干，加入 100 μL 复溶液，可得待测标本，转移至进样瓶后上机检测。进样顺序为空白样品-标准工作曲线-空白样品-质控-空白样品-待测血清标本-空白样品-质控-空白样品，查看标准曲线及质控是否在控，查看质谱图峰形、出峰时间及分离度是否正常，确认后导出数据。（2）维生素 D 营养状况判定：根据血清 25(OH)D 浓度，将血清 25(OH)D＜20.0 ng/mL 判定为维生素 D 缺乏，20～＜30.0 ng/mL 判定为维生素 D 不足。

1.4　质量控制

1.4.1　LC-MS/MS　25(OH)D_2 和 25(OH)D_3 检出限分别为 0.31 ng/mL、0.46 ng/mL，定量限分别为 1.56 ng/mL、1.66 ng/mL。25(OH)D_2 重复性精密度为 12.03%（低浓度）、9.57%（高浓度），25(OH)D_2 中间精密度为 8.90%（低浓度）、8.78%（高浓度）；25(OH)D_3 重复性精密度为 4.64%（低浓度）、2.26%（高浓度），25(OH)D_3 中间精密度为 4.76%（低浓度）、2.47%（高浓度）。该检测通过国家卫生健康委临床检验中心（NCCL）组织的室间质评及正确度验证。

1.4.2　ECLIA　25(OH)D 检出限为 3.00 ng/mL，定量限为 4.39 ng/mL，重复性精密度为 5.99%（低浓度）、4.58%（高浓度），中间精密度为 7.98%（低浓度）、5.92%（高浓度），该检测通过 NCCL 组织的室间质评。

1.5　统计学处理　采用 Medcala11.0 及 SPSS18.0 软件进行统计分析。使用配对 t 检验分析两种方法检测结果差异是否有统计学意义；使用 Passing-Bablok 回归分析两种检测方法之间的相关性；Bland-Altman 及 Mountain plot 进行两种方法的一致性检验；使用 Kappa 分析判断两种方法评估维生素 D 营养状况的诊断符合率。以 P＜0.05 为差异有统计学意义。

2　结　　果

2.1　两种方法的检测结果　本实验室 LC-MS/MS 与 ECLIA 法均经过严格的方法学验证，并参与了 NCCL 的室间质评，使用 LC-MS/MS 与 ECLIA 检测 25(OH)D，当日质控结果均在控。使用 LC-MS/MS 与 ECLIA 检测 94 例血清标本 25(OH)D 浓度，两种方法测定的 25(OH)D 浓度结果比较，差异有统计学意义（$P<0.05$）。LC-MS/MS 系统检测 25(OH)D 最低值为 4.82 ng/mL，最高值为 76.23 ng/mL。ECLIA 系统检测最低值为 6.41 ng/mL，最高值为 127.78 ng/mL。见表 1。

表 1　LC-MS/MS 与 ECLIA 对 94 例血清标本 25(OH)D 浓度的检测结果比较(ng/mL)

检测方法	浓度范围	中位数	百分位数(P_{25})	百分位数(P_{75})	浓度	95%*CI*
LC-MS/MS	4.82～76.23	24.08	16.05	35.14	26.67±4.79	23.65～29.70
ECLIA	6.41～127.78	36.70	17.99	55.31	39.33±4.09	34.40～44.27

2.2　两种方法的相关性和一致性　Passing-Bablok 回归分析显示两种方法检测 25(OH)D 浓度的回归方程为 $Y_{ECLIA}=-4.558\ 1+1.719\ 8X_{LC\text{-}MS/MS}$，斜率为 1.719 8(95%*CI* 1.586 3～1.828 4)，不包含 1，截距为 −4.558 1(95%*CI* −7.692 2 ～ −2.122 1)，不包含 0，提示两种方法存在系统差异或比例差异，见图 1。Bland-Altman 图显示两种方法差值的均值为 −12.7，差值的 95%*CI* 为 −35.7～10.4，有 3 个点[界外点数(比率)为 3.19%]落在 95%一致性界限以外，见图 2。山形图的山顶值为 −9.17 ng/mL，偏离 0 较多，见图 3。以上结果显示两种方法检测的结果一致性较差。

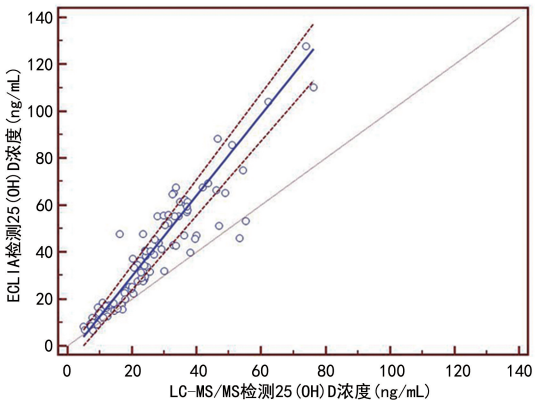


图 1　ECLIA 与 LC-MS/MS 检测 25(OH)D 浓度的 Passing-Bablok 回归图

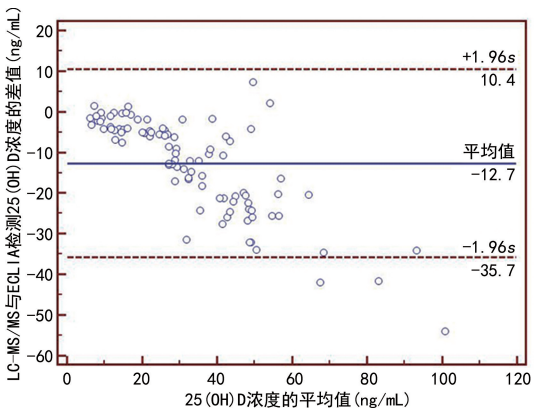


图 2　ECLIA 与 LC-MS/MS 法检测 25(OH)D 浓度的 Bland-Altman 图

2.3　两种方法诊断维生素 D 缺乏的一致性评价　将 94 例血清标本 LC-MS/MS 与 ECLIA 检测结果进行比较，判断受检者维生素 D 营养状况。使用 Kappa 分析判断两种方法诊断维生素 D 营养状况的符合率。两种方法判断维生素 D 缺乏的符合率为 94.68%，Kappa=0.875≥0.750，$P<0.001$，表明两种方法诊断结果具有一致性，一致性较好[3]。两种方法判断维生素 D 不足的符合率为 75.53%，Kappa=0.538，0.400<kappa<0.750，$P<0.001$，提示两种方法诊断结果的一致性中等[4]。以上分析结果表明两种方法在判断维生素 D 缺乏与不足时一致性较好，结果差异对维生素 D 营养状况判读的影响可接受。

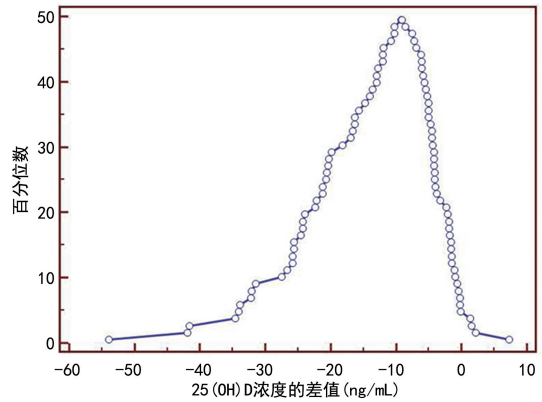


图 3　ECLIA 与 LC-MS/MS 法检测 25(OH)D 浓度的山形图

3　讨　　论

研究表明，维生素 D 不仅可以维持体内钙磷平衡及骨骼代谢，其在免疫调节、癌症、抗炎及心血管健康等方面也起着至关重要的作用[5]。维生素 D 缺乏或不足易导致佝偻病及骨质疏松症等常见病的发生，过量也会导致高钙血症等相关疾病[6]。相关研究指出，血清 25(OH)D 浓度检测已被公认为反映维生素 D 状态的最合理指标[7]。因此，需要选择合适的 25(OH)D 检测方法以辅助临床进行疾病诊断及预防。

目前临床实验室 25(OH)D 检测方法主要有放射免疫法(RIA)、酶联免疫吸附试验(ELISA)、ECLIA、

高效液相色谱法(HPLC)及 LC-MS/MS 等[8]。不同检测系统由于采用的方法学不同,抗干扰能力也不同,会出现同一标本在不同检测系统上得到不同的检测结果,这种结果差异的出现可能会影响临床对疾病的判读。为了改变不同检测系统结果差异的这种情况,有机构成立了维生素 D 标准化项目,其宗旨是促进全球所有实验室 25(OH)D 检测方法(包括商业化和自建方法)的标准化,从而提高医疗安全,保障全民健康[9-10]。目前越来越多厂商及大型临床实验室加入美国疾病控制和预防中心标准化认证程序的行列中,参加实验室数与日俱增,但距离 25(OH)D 检测结果一致的目的仍任重而道远[11]。因此,对不同检测系统所得到的结果之间的相关性及一致性进行评估是非常有意义的工作。

本研究采用 LC-MS/MS 与 ECLIA 这两种方法检测血清中 25(OH)D 浓度,LC-MS/MS 测定 25(OH)D 浓度明显低于 ECLIA,统计分析结果显示两种方法一致性较差。引起这种结果差异的原因可能有以下几点:ECLIA 原理为利用抗原抗体反应进行有效结合,易受基质及抗体状态影响,特异性较差,而 LC-MS/MS 经过对血清标本前处理、色谱分离、串联质谱根据分子量进行区分检测,可实现 25(OH)D_2、25(OH)D_3 的精准检测,从方法学角度来分析,ECLIA 较之 LC-MS/MS 测定结果偏高[7,12-13]。再者,ECLIA 无法避免 25(OH)D_3 的 3-epi-25(OH)D_3 异构体造成的影响,导致交叉反应,从而可能使得检测结果较高[14]。25(OH)D 与维生素 D 结合蛋白是否解离完全,也是影响其检测结果准确性的重要影响因素,受试者维生素 D 结合蛋白浓度差异也导致了其对维生素 D 代谢物的亲和力不同,这也是 ECLIA 与 LC-MS/MS 产生检测结果差异的可能原因[15]。

两种方法在诊断维生素 D 缺乏时诊断符合率为 94.68%,Kappa 系数为 0.875,一致性较好,诊断维生素 D 不足的诊断符合率为 75.53%,Kappa 系数为 0.538,一致性中等,整体来看,依据营养状况诊断维生素 D 缺乏与不足的符合率较高。LC-MS/MS 因其高灵敏度、特异度等优势,被认为是血清 25(OH)D 检测的金标准,但目前质谱仪器价格较高,且对实验室环境条件及人员技术要求较高,在大型医院及第三方医学检验实验室应用较多,在小型医院暂未广泛使用。而 ECLIA 自动化程度高,成本较低,适用于小型医院及健康体检。这两种方法在应用和选择时,临床应考虑可能存在的干扰因素,根据实际情况选择合适检测系统。在进行维生素 D 检测时,25(OH)D_2 虽检出率较高,但大多数标本浓度较低,对无 LC-MS/MS 检测能力的实验室可选择传统免疫方法作为替代方法;当受试者服用过 25(OH)D_2 时,LC-MS/MS 是更可靠的检测方法。在解读维生素 D 报告时,应充分考虑所选用的检测方法,建立本实验室所用方法检测 25(OH)D 的参考范围,并尽快实施维生素 D 检测一致化计划。

本研究尚有不足,仅比对了罗氏电化学发光免疫分析仪与 LC-MS/MS 检测 25(OH)D 的一致性,入组样本量不大,后续可进行其他平台的比对。3-epi-25(OH)D_3 是 25(OH)D_3 的同分异构体,在结构上仅有一个羟基空间方向上的差异,需高灵敏度质谱仪器才能将其分离检测,它的存在会造成 25(OH)D 检测结果的假阳性,3-epi-25(OH)D_3 在一岁以下婴幼儿中浓度较高,影响更为明显。同时检测 25(OH)D_2、25(OH)D_3、3-epi-25(OH)D_3 的浓度有助于真实准确地评估维生素 D 营养水平,对于骨质疏松、佝偻病的治疗防治可提供有效诊断依据,同时可为心血管及肿瘤疾病等提供辅助诊断。后续仍需继续开发可分离 3-epi-25(OH)D_3 的 LC-MS/MS 检测方法,助力实现 25(OH)D 的精准检测。同时提示检验实验室应定期进行比对,保证检测结果的准确性。临床在解读报告时也应考虑到不同检测系统对检测结果的影响。

综上所述,ECLIA 与 LC-MS/MS 检测结果一致性较差,但依据营养状况诊断维生素 D 缺乏与不足的符合率较高。两种检测方法都可以应用于临床检测,临床可根据实际需求选择相应检测方法。

参考文献

[1] 张民杰,张春燕,田亚平,等. 25-羟基维生素 D 不同临床检测方法的评价[J]. 标记免疫分析与临床,2021,28(10):1800-1804.

[2] 曾伟杰,谢洁,龚晓云,等. 25-羟基维生素 D 检测方法研究进展[J]. 食品安全质量检测学报,2019,10(11):3419-3429.

[3] 龚美亮,李晓霞,陈瑞,等. 免疫分析系统与液相色谱串联质谱检测 25-羟基维生素 D 的一致性评价[J]. 中国医学装备,2021,18(5):30-33.

[4] 郭丽华. 全自动免疫分析系统与液相色谱串联质谱系统检测 25-羟基维生素 D 的一致性评价[J]. 实用检验医师杂志,2022,14(2):153-156.

[5] 李思燃,付志成,张惠迪,等. 液相色谱-串联质谱法和酶联免疫法检测人血清中 25-羟基维生素 D 的一致性评价[J]. 卫生研究,2020,49(3):447-457.

[6] CHAROENNGAM N, SHIRVANI A, HOLICK M F, et al. Vitamin D for skeletal and non-skeletal health: What we should know[J]. J Clin Orthop Trauma, 2019, 10(6): 1082-1093.

[7] 潘晓芳,吴静标,黄燕虹,等. 我国 25 羟基维生素 D 检测方法及其研究进展[J]. 2020,12(12):1591-1595.

[8] 李水军,王思合,周建烈,等. 维生素 D 代谢及 25-羟基维生素 D 测定方法研究进展[J]. 国际检验医学杂志,2012,33(24):3028-3030.

(下转第 3058 页)

[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(3): 1671.
[18] HOU J, LI X, XIE K P. Coupled liquid biopsy and bioinformatics for pancreatic cancer early detection and precision prognostication[J]. Mol Cancer, 2021, 20(1): 34.
[19] ALIX-PANABIÈRES C, PANTEL K. Liquid biopsy: from discovery to clinical application[J]. Cancer Discov, 2021, 11(4): 858-873.
[20] QI Z H, XU H X, ZHANG S R, et al. The significance of liquid biopsy in pancreatic cancer[J]. J Cancer, 2018, 9(18): 3417-26.
[21] GALL T M H, BELETE S, KHANDERIA E, et al. Circulating tumor cells and cell-free dna in pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. Am J Pathol, 2019, 189(1): 71-81.
[22] 车旭，黄小淮，陈建霖，等. 美国约翰·霍普金斯医学院进展期胰腺癌治疗经验及研究趋势[J]. 中国实用外科杂志，2017，37(7)：755-760.
[23] NAGAI M, SHO M, AKAHORI T, et al. Application of liquid biopsy for surgical management of pancreatic cancer[J]. Ann Gastroenterol Surg, 2020, 4(3): 216-223.
[24] 赵传华. 消化道肿瘤靶向及免疫治疗的潜在预测标志物的探索研究[D]. 北京：军事科学院，2022.
[25] 王红兵. 液体活检在恶性肿瘤中的应用[J]. 实用医院临床杂志，2022，19(5)：198-202.
[26] CORCORAN R B, CHABNER B A. Application of cell-free DNA analysis to cancer treatment[J]. N Engl Med, 379(18): 1754-1765.
[27] YE Q, LING S, ZHENG S, et al. Liquid biopsy in hepatocellular carcinoma: circulating tumor cells and circulating tumor DNA[J]. Mol Cancer, 2019, 18(1): 114.
[28] ZHU Y, ZHANG H, CHEN N, et al. Diagnostic value of various liquid biopsy methods for pancreatic cancer: a systematic review and meta-analysis[J]. Medicine (Baltimore), 2020, 99(3): e18581.
[29] AL-SHAHERI F N, ALHAMDANI M S S, BAUER A S, et al. Blood biomarkers for differential diagnosis and early detection of pancreatic cancer[J]. Cancer Treat Rev, 2021, 96: 102193.
[30] ZILL O A, GREENE C, SEBISANOVIC D, et al. Cell-free DNA next-generation sequencing in pancreatobiliary carcinomas[J]. Cancer Discov, 2015, 5(10): 1040-1048.
[31] KENNER B, CHARI S T, KELSEN D, et al. Artificial intelligence and early detection of pancreatic cancer: 2020 summative review[J]. Pancreas, 2021, 50(3): 251-279.
[32] ALLENSON K, CASTILLO J, SAN LUCAS F A, et al. High prevalence of mutant KRAS in circulating exosome-derived DNA from early-stage pancreatic cancer patients[J]. Ann Oncol, 2017, 28(4): 741-747.
[33] 周国锋，刘霄宇，陈颐，等. 循环游离 DNA 在胰腺癌中的临床应用进展[J]. 复旦学报(医学版)，2018，45(1)：113-118.
[34] 李斯特，徐文博. 高通量测序技术在循环肿瘤 DNA 检测中的应用[J]. 实验与检验医学，2021，39(2)：255-258.
[35] EISSA M A L, LERNER L, ABDELFATAH E, et al. Promoter methylation of ADAMTS1 and BNC1 as potential biomarkers for early detection of pancreatic cancer in blood[J]. Clin Epigenetics, 2019, 11(1): 59.
[36] CAO F, WEI A, HU X, et al. Integrated epigenetic biomarkers in circulating cell-free DNA as a robust classifier for pancreatic cancer[J]. Clin Epigenetics, 2020, 12(1): 112.
[37] CRISTIANO S, LEAL A, PHALLEN J, et al. Genome-wide cell-free DNA fragmentation in patients with cancer[J]. Nature, 2019, 570(7761): 385-389.
[38] 贾艳会，杜双双，刘树业. 循环肿瘤 DNA 在胰腺癌诊治研究进展[J]. 实用医学杂志，2021，37(7)：948-952.
[39] WEI T, ZHANG Q, LI X, et al. Monitoring tumor burden in response to FOLFIRINOX chemotherapy via profiling circulating cell-free DNA in pancreatic cancer[J]. Mol Cancer Ther, 2019, 18(1): 196-203.
[40] LAI X, WANG M, MCELYEA S D, et al. A microRNA signature in circulating exosomes is superior to exosomal glypican-1 levels for diagnosing pancreatic cancer[J]. Cancer Lett, 2017, 393: 86-93.

(收稿日期：2023-05-12 修回日期：2023-09-26)

(上接第 3053 页)

[9] 周琰，潘柏申. 维生素 D 检测标准化进程[J]. 检验医学，2016，31(1)：71-75.
[10] WISE S A, CAMARA J E, SEMPOS C T, et al. Vitamin D Standardization Program (VDSP) intralaboratory study for the assessment of 25-hydroxyvitamin D assay variability and bias[J]. J Steroid Biochem Mol Biol, 2021, 212: 105917.
[11] 赵蓓蓓，程雅婷，董衡，等. 25 羟基维生素 D 检测方法的可靠性分析[J]. 临床儿科杂志，2017，35(12)：957-960.
[12] 徐必文，谢梅，蒋华科，等. 全自动生化法检测 25-羟基维生素 D 的方法学评估研究[J]. 中国处方药，2023，21(2)：28-30.
[13] 邢晏，冯长焕，杜利君. 电化学发光技术检测血清 25 羟基维生素 D 的性能验证及分析[J]. 宜宾学院学报，2019，19(6)：121-124.
[14] 禹松林，韩建华，张江涛，等. 同位素稀释超高效液相色谱串联质谱法快速测定血清 25-羟维生素 D2 和 25-羟维生素 D3 临床方法的建立[J]. 中华检验医学杂志，2014，37(8)：617-622.
[15] 龚美亮，王科宇，陈瑞，等. 一种免疫分析系统与液相色谱-串联质谱检测 25-羟维生素 D 的一致性评价[J]. 中华检验医学杂志，2021，44(7)：621-626.

(收稿日期：2023-06-10 修回日期：2023-10-20)