

**《血清 5-甲基四氢叶酸检测 同位素稀释液相色谱-
串联质谱法》**

**（征求意见稿）
编制说明**

《血清 5-甲基四氢叶酸检测 同位素稀释液相色谱-串联质谱法》

浙江省数理医学学会团体标准编制组

2026 年 7 月 7 日

一、编制的目的和意义

（一）编制背景

同位素稀释液相色谱-串联质谱法（即“ID-LC-MS/MS”）技术起源于 20 世纪末，2000 年后商业化仪器的应有推动其在环境科学、代谢组学、法医学等领域的广泛应用。国际标准化组织及各国计量机构通过关键比对验证技术等效性，推动 ID-LC-MS/MS 成为全球公认的权威方法。国内多家企业开发的液相色谱-串联质谱检测系统（液相色谱-串联质谱法简称“LC-MS/MS”）已应用于维生素、激素、治疗药物监测等临床检测，性能指标达到国际同类水平。

叶酸在人体内有着重要的生理功能，其准确测定对于临床诊断和治疗具有重要意义，5-甲基四氢叶酸是人体血清中叶酸的主要活性成分。我国目前尚未建立叶酸检测的参考方法。临床上总叶酸的检测方法，在不同检测系统间的检测结果可比性不佳。目前存在不同实验室间结果差异较大的问题。因此，迫切需要一种更为准确、可靠的方法来满足临床对血清 5-甲基四氢叶酸测定的需求。同位素稀释液相色谱-串联质谱法以其高灵敏度、高特异性以及强大的定量分析能力，成为了解决这一问题的有力工具。

同位素稀释液相色谱-串联质谱法已经是一种成熟的分析技术，广泛应用于生物样品中小分子化合物的定量分析。

该方法具有灵敏度高、特异性好、线性范围宽等优点，适用于血清中 5-甲基四氢叶酸的测定。已有多项国内外研究验证了其用于血清 5-甲基四氢叶酸测定的可行性。此外，随着液相色谱-串联质谱技术的不断发展和普及，越来越多的实验室具备开展该项检测的技术条件。

（二）编制目的

建立基于同位素稀释液相色谱-串联质谱法检测血清 5-甲基四氢叶酸的参考测量程序以提高测定准确性，满足临床对高精度数据的需求。同时，促进标准化，提高不同实验室之间的可比性，确保临床结果的准确性和一致性。

二、任务来源及编制原则和依据

（一）任务来源

本标准编制任务来源于浙江省数理医学学会于 2025 年 10 月 9 日下达的《关于批准〈血清 5-甲基四氢叶酸检测 同位素稀释液相色谱串联质谱法〉团体标准立项的通知》（浙数医[2025]27 号），归口单位为浙江省数理医学学会，标准名称为《血清 5-甲基四氢叶酸检测 同位素稀释液相色谱串联质谱法》，项目编号：ZSMM—2025—011。

（二）编制原则

本标准的制定工作遵循“统一性、协调性、适用性、一致性、规范性”原则，本着先进性、科学性、合理性和可操

作性的原则，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》给出的规则编写。

(三) 编制依据

本文件的编制主要参考与依据以下文件：

[1] Cao, Yunfeng et al. A sensitive, robust and high-throughput isotope dilution LC-MS/MS method for quantifying three folate forms in serum. *Bioanalysis* vol. 15,5 (2023): 249-258.

[2] Pawlosky, R J et al. Determination of 5-methyltetrahydrofolic acid in human serum by stable-isotope dilution high-performance liquid chromatography-mass spectrometry. *Analytical biochemistry* vol. 298, 2 (2001): 299-305.

[3] Hyung, Seok-Won et al. Highly sensitive analytical method for the accurate determination of 5-methyltetrahydrofolic acid monoglutamate in various volumes of human plasma using isotope dilution ultra-high performance liquid chromatography-mass spectrometry. *Journal of chromatography. B, Analytical technologies in the biomedical and life sciences* vol. 1179 (2021): 122725.

[4] Kirsch, Susanne H et al. Quantification of k

ey folate forms in serum using stable-isotope dilution ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Journal of chromatography.B, Analytical technologies in the biomedical and life sciences vol.878,1(2010):68-75.

[5] Nelson,Bryant C et al. Affinity extraction combined with stable isotope dilution LC/MS for the determination of 5-methyltetrahydrofolate in human plasma. Analytical biochemistry vol.313,1(2003): 117-27.

[6] 彭絮,邹迎曙,杨宗兵,等. 同位素稀释液相色谱串联质谱法测定人血清中 5-甲基四氢叶酸[J]. 临床检验杂志,2018,36(3):161-165.

三、编制过程

1、2024 年 11 月 18 日,重庆医科大学附属第一医院组织召开了《血清 5-甲基四氢叶酸检测 同位素稀释液相色谱-串联质谱法》团体标准启动会,讨论了标准的框架和内容。

2、2025 年 1 月~2 月,标准编制组组织多次讨论,逐条讨论并完善该标准的结构框架与条款内容,形成团体标准《血清 5-甲基四氢叶酸检测 同位素稀释液相色谱串联质谱法》(工作组讨论稿)。

3、2025 年 3 月 28 日，标准编制组向浙江省数理医学学会提出团体标准的立项申请，于 4 月 29 日收到受理通知书。

4、2025 年 9 月 28 日，浙江省数理医学学会标准化工作委员会组织召开立项评审会，《血清 5-甲基四氢叶酸检测同位素稀释液相色谱串联质谱法》通过了立项评审论证。经公示，《血清 5-甲基四氢叶酸检测 同位素稀释液相色谱串联质谱法》于 2025 年 10 月 9 日成功获批立项。

5、2026 年 5 月 20 日，标准编制组召开研讨会，逐条讨论并完善该标准的结构框架与条款内容。

6、2026 年 5 月～6 月，标准编制组依据研讨会上专家意见进行修改，更新标准草案。

7、2026 年 5 月 25 日，标准编制组根据同位素稀释液相色谱-串联质谱法有关的通用名称标准，提出将团体标准名称变更为《血清 5-甲基四氢叶酸检测 同位素稀释液相色谱-串联质谱法》。

8、2026 年 7 月 7 日，标准编制组完成了团体标准《血清 5-甲基四氢叶酸检测 同位素稀释液相色谱-串联质谱法》(征求意见稿)及编制说明。

四、主要内容的确定

通过对国内外相关的研究文献、专家共识、行业标准等进行分析，以及对临床应用情况进行调研，参考团体相关标准及专家开会讨论等确定了本文件中的相关重要技术内容。

《血清 5-甲基四氢叶酸检测 同位素稀释液相色谱-串联质谱法》按照 GB/T 1.1—2020 规范进行该标准的文稿起草。该标准拟由（1）范围；（2）规范性引用文件；（3）术语和定义；（4）缩略语；（5）检测原理和方法；（6）试剂和配制；（7）仪器与设备；（8）样品；（9）检测系统和分析部分的准备；（10）方法学性能评价；（11）特殊情况的处理等十一个章节组成。

（一）范围

标准的范围与立项申请保持一致，采用两段论方式进行表达，其明确描述了用同位素稀释液相色谱-串联质谱法测定血清 5-甲基四氢叶酸含量的方法，包括原理和方法、试剂与配置、仪器与设备、样品、检测系统和分析部分的准备、方法学性能评价、特殊情况处理等内容。本标准适用于医疗机构临床实验室、法定计量检定机构、检验检测机构等单位利用同位素稀释液相色谱-串联质谱法检测血清 5-甲基四氢叶酸。

（二）规范性引用文件

本文件在起草过程中，查阅了现有相关领域的标准，其中适用于本文件必不可少的条款，规范性引用了下列文件中的内容。

《分析实验室用水规格和试验方法》（GB/T 6682）

《血清 25-羟基维生素 D₂ 和 D₃ 的检测 同位素稀释液相色谱串联质谱法》（WS/T 478—2024）

（三）术语和定义

为统一概念并便于文件使用者准确理解，本部分界定了叶酸、5-甲基四氢叶酸、同位素稀释液相色谱-串联质谱法等术语和定义。由中华人民共和国国家卫生健康委员会于 2024 年颁布的行业标准《血清 25-羟基维生素 D₂ 和 D₃ 的检测 同位素稀释液相色谱串联质谱法》（WS/T 478—2024）中已界定并适用本文件的相关专业术语和定义，文中不再赘述。

（四）符号与缩略语

本部分列出了文件中频繁使用的 8 项英文缩略语及其完整中文释义，以确保行文简洁清晰，便于查阅。包括“5-MTHF”、

“CV”、“ESI”、“ID-LC-MS/MS”、“LOD”、“LLMI”、

“MRM”、“S/N”等。

（五）检测原理和方法

本部分介绍了同位素稀释液相色谱-串联质谱法的基本原理和方法，参考了文献 1～文献 2 对该检测方法的关键步

骤进行简要阐述。

（六）试剂和配制

本部分明确了同位素稀释液相色谱-串联质谱法检测 5-甲基四氢叶酸实验过程可选用的试剂，以及所需配制溶液如内标工作液、标准品工作液和流动相 A/B 的配制的方法要求。

（七）仪器与设备

本部分明确了该方法学所需的仪器与设备，参考文献 3~文献 5 对液相色谱串联质谱检测系统、液相色谱柱、分析天平、离心机、旋涡式混合器、加热吹干装置、微量移液器和通风设备等仪器设备的功能和规格要求进行了说明。

（八）样品

本部分明确了对检测样品的要求和样品保存、样品前处理的要求方法。

（九）检测系统和分析部分的准备

液相色谱串联质谱检测系统的准备：本部分参考文献 5~文献 6 的建议，结合临床实验室的工作规定，明确了质谱系统和液相系统的准备要求，包括系统校准、离子源条件、流动相准备和色谱柱平衡等。

检测方法：本部分参考生产厂商说明书对液相色谱仪器条件、液相色谱洗脱条件、质谱条件中的离子对参数和质谱参数等进行了明确要求。

结果分析：本部分明确了工作曲线的建立中直线拟合、

建立工作曲线、血清样品中 5-MTHF 浓度计算的方法和要求。

（十）方法学性能评价

本部分参考行业标准《血清 25-羟基维生素 D₂ 和 D₃ 的检测 同位素稀释液相色谱串联质谱法》（WS/T 478—2024）并结合该实验方法学性能指标，明确规定了方法学性能评价中精密度、回收率、线性、检出限和定量检测下限、基质效应和稳定性的要求。

（十一）特殊情况的处理

本部分明确规定了当出现样本相关异常、仪器与试剂异常和结果异常等特殊情况时的处理方法和要求。

五、采标情况

无

六、重大分歧意见的处理

本标准制定过程中无重大分歧。

七、与国家法律法规和强制性标准的关系

本标准为推荐性的团体标准，与有关的现行法律、法规和强制性国家/行业标准无抵触。

八、标准实施的建议

标准发布后视各方反映情况,可以举办培训班来指导标准的实施。

九、其他应予说明的事项

无

《血清 5-甲基四氢叶酸检测

同位素稀释液相色谱-串联质谱法》团体标准编制组

2026 年 7 月 7 日