
中华人民共和国国家计量技术规范
人血清中 C-反应蛋白参考测量程序
(LC-MS/MS 法)

编制说明

全国临床医学计量技术委员会征求意见稿

目录

1. 任务来源	3
2. 项目背景	3
3. 编写过程	3
4. 编写依据	4
5. 主要内容	4
6. 测量程序的可靠性	5
7. 测量不确定度评定	5

全国临床医学计量技术委员会征求意见稿

1. 任务来源

本技术规范根据国家市场监督管理总局市监计量发〔2022〕70号文件要求，由中国计量科学研究院、南京市计量监督检测院承担制订工作，归口单位为全国临床医学计量技术委员会。

2. 项目背景

C-反应蛋白（C-reactive protein，CRP）是一种重要的急性时相反应蛋白。当机体受到感染、炎症或组织损伤等刺激时，血清中 CRP 浓度可在较短时间内升高。CRP 测量广泛用于炎症状态监测、感染性疾病辅助判断以及心血管疾病风险评估等临床场景。

目前，临床实验室可采用免疫比浊法、化学发光法及其他免疫分析方法测量 CRP。由于不同检测系统在校准品、抗体、检测原理和量值传递路径等方面存在差异，不同平台之间的测量结果可能存在不一致。建立可溯源的参考测量程序，是提高 CRP 测量结果准确性和可比性、支持临床检验结果互认的重要基础。

本技术规范建立了基于同位素稀释液相色谱串联质谱法（ID-LC-MS/MS）的血清 CRP 参考测量方法。该方法采用磁珠-抗体复合物对血清中的 CRP 进行免疫富集，经洗涤和洗脱后使用胰蛋白酶酶解，选取 ESDTSYVSLK、GYSIFS YATK 和 QDNEILIFWSK 三条特征肽段进行定量，并使用相应稳定同位素标记特征肽段作为内标。通过基质匹配单点校准品与待测样品同步处理和测量，实现血清中 CRP 质量浓度的测定。

3. 编写过程

2022 年 7 月，技术规范制定计划下达后，编写组立即开展任务分工，整理前期实验数据并启动技术规范编写工作。

2023 年 7 月，编写组完成初稿，并在编写组内部开展讨论，进一步明确了方法优化、计量学要求和分析可靠性验证等技术内容。

2024 年 3 月，编写组对补充实验数据进行整理和分析，完善了方法性能评价、样品处理流程和分析可靠性等内容。

2024 年 9 月至 11 月，编写组形成讨论稿，秘书处组织会议并征集专家意

见和建议。

2024 年 11 月至 2026 年 4 月，编写组根据专家意见持续完善方法和文本，形成征求意见稿。

4. 编写依据

本技术规范主要依据 JJF 1071-2010《国家计量校准规范编写规则》、ISO 15193:2009《体外诊断医疗器械 生物源性样品中量的测量 参考测量程序的表述和内容的要求》和 GB/T 19702-2021《体外诊断医疗器械 生物源性样品中量的测量 参考测量程序的表述和内容的要求》进行编写，并参考以下文件：

- (1) JJF 1001-2011《通用计量术语及定义》；
- (2) JJF 1135-2005《化学分析测量不确定度评定》；
- (3) JJF 1059.1-2012《测量不确定度的评定与表示》；
- (4) JJF 1317-2011《液相色谱-质谱联用仪校准规范》；
- (5) JJG 705-2014《液相色谱仪》；
- (6) JJG 646-2006《移液器》；
- (7) GB/T 6682-2008《分析实验室用水规格和试验方法》。

5. 主要内容

按照上述编写依据，本技术规范包括 13 个章节和 2 个附录：1 范围、2 引用文件、3 检测原理和方法、4 仪器、5 试剂、6 采样和样品、7 测量系统和分析准备的步骤、8 样品测定、9 数据处理、10 分析可靠性、11 参考测量程序的确认、12 报告、13 质量保证；附录 A 为人血清中 C-反应蛋白测量参考方法标准操作规程示例，附录 B 为人血清中 C-反应蛋白测量不确定度评定示例。

本技术规范的核心技术路线为：采用磁珠-抗体复合物对 CRP 进行免疫富集，经洗涤、洗脱、变性、还原、烷基化和胰蛋白酶酶解后，以三条定量特征肽段及其稳定同位素标记肽段的峰面积比进行计算。测量时设置与待测样品浓度水平相近的基质匹配单点校准品，并与样品同步完成前处理和 LC-MS/MS 测量。

6. 测量程序的可靠性

为保证本技术规范所述测量程序满足参考测量程序的预期用途，编写组对方法的正确度、精密度、测量不确定度、检出限和定量限、分析特异性、样品处理稳定性以及常见影响因素等进行了评价。

正确度验证采用 C-反应蛋白溶液纯度标准物质 GBW09228 和冰冻人血清中 C-反应蛋白标准物质 GBW09865~GBW09868。规范文本中给出了重复性精密度、测量不确定度要求、检出限和定量限等分析性能指标，并对溶血、脂血和黄疸等常见影响因素进行了评价。

由于本方法采用免疫富集、胰蛋白酶酶解和稳定同位素标记特征肽段内标，方法确认时还应重点关注免疫富集回收、酶切稳定性、基质效应、序列内响应漂移以及三条特征肽段测量结果的一致性。

7. 测量不确定度评定

本规范提供了测量不确定度评定示例。评定时，应依据测量模型识别各输入量及其不确定度来源，并结合实验室实际操作流程进行合成。对于已经通过重复性或实验室内复现性数据反映的影响因素，应注意避免重复计入。

7.1 由校准品和样品配制引入的不确定度

- (1) C-反应蛋白有证标准物质赋值及证书给出的不确定度分量；
- (2) 基质匹配单点校准品配制过程中，由标准储备液取用、称量、定容或移液引入的不确定度分量；
- (3) 空白血清基质本底及其修正引入的不确定度分量；
- (4) 待测血清样品取样量，以及必要时由血清密度测量和质量浓度、体积浓度换算引入的不确定度分量；
- (5) 稳定同位素标记特征肽段储备液、工作液配制及加入量引入的不确定度分量。

7.2 由测量重复性引入的不确定度

- (1) 独立平行样品处理和重复测量引入的不确定度分量；
- (2) LC-MS/MS 重复进样、峰积分和峰面积比计算引入的不确定度分量；
- (3) 测量序列中样品前后单点校准品响应差异及批内响应漂移引入的不确定度分量。

定度分量；

（4）不同批次或不同工作日测量结果差异引入的不确定度分量。

7.3 由样品处理方法引入的不确定度

（1）磁珠-抗体复合物对血清内源性 CRP 和基质匹配单点校准品中 CRP 的免疫富集效率差异引入的不确定度分量；

（2）洗涤和洗脱过程回收率差异引入的不确定度分量；

（3）胰蛋白酶对血清内源性 CRP 和校准品中 CRP 的酶切效率差异引入的不确定度分量；

（4）残余基质效应以及三条特征肽段响应一致性引入的不确定度分量。

具体不确定度分量的取值、合成及结果表达见技术规范附录 B。

计量规范编写组

2026 年 5 月 10 日

全国临床医学计量技术委员会征求意见稿