

• 检验技术与方法 •

呕吐物胶体金法潜血试验影响因素及解决方案探讨

邓纪望, 蔡燕玲, 何以雅

(中山市大涌医院检验科, 广东中山 528476)

摘要:目的 探讨呕吐物胶体金单克隆抗体法潜血试验(胶体金法)的影响因素及解决方法。方法 选用经胃镜检查有胃部出血的患者的呕吐物,分为明显黏液组和无明显黏液组,另设阳性对照组及阴性对照组,分别用生理盐水、蒸馏水、5% NaHCO_3 处理后进行 OB 试验。同时用胶体金法对所选患者的大便进行 OB 试验。结果 在 pH 7~8 时,胶体金法明显黏液组用 5% NaHCO_3 处理与用蒸馏水或生理盐水处理比较, $P < 0.01$; 其余各组间比较, $P > 0.05$ 。结论 pH、黏液是呕吐物胶体金法关键性影响因素,这种影响是可逆的,这与盐酸破坏了 Hb 抗原结构造成了假阴性,这种破坏是不可逆的观点完全相反。对适量呕吐物用等量 5% NaHCO_3 处理黏液后调节酸碱度为 pH 7~8,用化学方法做过筛试验,再用胶体金法进行确证试验可得到可靠的结果。

关键词:胶体金; 抗体,单克隆; 潜血

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.07.047

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)07-0858-02

潜血试验以往均采用化学方法,现逐渐被胶体金单克隆抗体法(简称胶体金法)所取代,但用此法检测胃液或呕吐物潜血时常出现假阴性^[1-3],在实际工作中也发现针对呕吐物用胶体金法做潜血试验时,胃镜检查有明显出血,呕吐物呈深咖啡色也是阴性,因此研究者针对其究竟是哪些因素引起及如何处理进行探讨,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2011 年 7 月至 2012 年 7 月本院门诊及入院治疗经胃镜检查具有胃部出血和呕吐症状的患者 23 例,其中男 19 例,女 4 例,明显黏液 18 例,无明显黏液 5 例。

1.2 仪器与试剂 5% NaHCO_3 由河北天成药业股份有限公司提供。邻甲苯胺法试剂、10% 氢氧化钠及 10% 盐酸系自配试剂。胶体金法便隐血检测(FOB)试剂盒由广州万孚生物技术有限公提供。尿十项试纸由桂林优利特医疗电子有限公司提供。

1.3 方法 邻甲苯胺法按文献[4]操作;尿十项试纸法:将处理好的样本直接点在试纸的潜血测试模块上,要求覆盖该模块,并与试剂筒上的标准色标比较;胶体金法按说明书操作。选用经胃镜检查有胃部出血患者的呕吐物,根据化学方法(尿十项试纸,邻甲苯胺法)阳性,分为有明显黏液组和无明显黏液组,另设一组阳性对照组及阴性对照组,阳性对照组用人全血制成便隐血检测(FOB)试剂盒规定的可检测浓度,阴性对照不加任何物质,分别用生理盐水、蒸馏水、5% NaHCO_3 处理和进行 OB 试验。用胶体金法对所选患者的大便进行 OB 试验。

1.4 统计学处理 采用 SPSS13.0 统计学软件进行处理。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

所有患者大便 OB 试验均呈阳性;明显黏液组在化学方法阳性的情况下,用蒸馏水或生理盐水稀释的标本即使呈咖啡色,在 $\text{pH} \leq 4$ 时各稀释倍数胶体金法结果均失控,表现为阳性质控带呈阴性或极弱阳性,测试带均呈阴性,在 $\text{pH} \geq 9$ 时各稀释倍数胶体金法均呈阴性结果或无效结果;无明显黏液组只需用生理盐水稀释即可在 pH 值为 4~8 时得到阳性结果;所有用 5% NaHCO_3 处理的标本包括阴性对照组在 pH 5 时胶体

金均呈阳性结果,调整 pH 7~8 或用生理盐水 5 倍以上稀释可消除假阳性。在 pH 7~8 时,胶体法明显黏液组用 5% NaHCO_3 处理与用蒸馏水或生理盐水处理比较, $P < 0.01$,其余各组比较差异无统计学意义, $P > 0.05$ 。邻甲苯胺法与尿十项试纸法结果一致。

3 讨论

结果表明胃酸对胶体金单克隆抗体法潜血试验的影响是可逆的。这与盐酸破坏了 Hb 抗原结构造成了假阴性,这种破坏是不可逆的观点完全相反^[1]。所有患者大便 OB 试验均呈阳性,如果盐酸破坏了 Hb 抗原结构,又经过肠道消化酶的消化作用,则大便 OB 试验不可能出现阳性结果。

pH 是呕吐物胶体金法关键影响因素,其最适 pH 值为 7~8,在 pH 过低时阳性质控线不出现而失控或假阴性,认为是由于胶体金颗粒聚集成为大颗粒不能移动所致或 Hb 的抗原结合位点构象改变,不能与相应的单克隆抗体结合所致。pH 过高时假阴性或质控带呈弱阳性或失控,可能是由于 Hb 的抗原结合位点构象改变,不能与相应的单克隆抗体结合所致。所有用 5% NaHCO_3 处理的标本包括阴性对照在 pH 5 时 OB 用胶体金法均阳性,原因不明,但只要将酸碱度调至 pH 7~8 或用生理盐水稀 5~10 倍左右即可解决。

黏液也是影响 OB 免疫层析法检出关键因素之一,可能是其影响了 Hb 移动及抗原结合位点的暴露有关,可先用等量 5% 碳酸氢钠液与呕吐物混匀,静置 5 min,以去除黏液的影响,然后调 pH 7~8 后进行 OB 试验即可。对样本处理用生理盐水或 5% NaHCO_3 较蒸馏水好,这可能与抗原抗体反应需要一定的离子参与有关。后带现象的影响可能与样本 HB 含量过高有关^[5],可根据咖啡色的深浅将其稀释后再进行 OB 试验,以消除带影响。

邻甲苯胺法假阳性率高,有报道高达 18.4%^[1]或 24.4%^[6],胶体金法敏感度特异度好^[7]。建议凡呕吐物潜血试验可将化学方法和胶体金法 2 种方法联用可有效保证呕吐物潜血试验的准确度与敏感度。这与邻甲苯胺法检测粪便隐血敏感度高,但存在较高的假阳性^[8],胶体金法检测粪便隐血不受饮食限制,特异度高,但在敏感度不如邻甲苯胺法,2 种方法

联合使用,可有效保证临床粪便隐血检测的准确度与敏感度一致^[9]。

参考文献

[1] 王莉. 胶体金试纸与联苯胺法检测隐血的比较[J]. 临床检验杂志, 2002, 20(3): 144.

[2] 张立, 蔡钢强. 免疫胶体金隐血试验技术的应用回顾[J]. 国际检验医学杂志, 2009, 30(2): 139-140.

[3] 吴乾虎. 胃液潜血检验与临床[J]. 标记免疫分析与临床, 2005, 12(1): 52-53.

[4] 叶应妩, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 南京: 东南大学出版社, 2006: 311.

• 检验技术与方法 •

[5] 张桔红, 张凌玲, 林玮. 金标法测便类潜血中的后带现象[J]. 实用医技杂志, 2004, 11(4): 402-403.

[6] 黄彩英, 苗春生, 车欣. 盐酸对胶体金法检测潜血的影响与分析[J]. 标记免疫分析与临床, 2008, 15(1): 60-61.

[7] 江华, 黄毅, 郑晖. 胶体金单克隆抗体法与邻联甲苯胺法联合检测粪便隐血的临床意义[J]. 海南医学, 2010, 21(17): 103-104.

[8] 梁湘辉, 刘文恩. 3 种试验方法检测胃液隐血的比较[J]. 临床检验杂志, 2010, 28(1): 23.

[9] 牛小斌. 化学法和免疫法检测粪便隐血对比分析[J]. 中国误诊学杂志, 2009, 9(28): 6832-6833.

(收稿日期: 2012-11-07)

胸腹水有核细胞计数自动化检测探讨

戴 芸, 杨 辉, 乐华文[△]

(上海中医药大学附属曙光医院, 上海 200021)

摘 要:目的 探讨自动化仪器在胸腹水有核细胞计数中的应用。方法 分别用尿有形成分分析仪 UF-1000i 和血细胞分析仪 LH750 对 129 份胸腹水标本进行有核细胞细胞计数检测, 并与普通光学显微镜计数进行比较。结果 UF-1000i 和 LH750 自动化分析仪测定胸腹水标本的精密度高, 平均 CV 分别为 1.94% 和 1.52%。当胸腹水有核细胞大于或等于 $1\,000\times 10^6/\mu\text{L}$ 时, UF1000i 与显微镜手工法比较, $P<0.05$; 有胸腹水核细胞小于 $500\times 10^6/\mu\text{L}$, LH750 与显微镜手工法比较, $P<0.05$ 。结论 在一定范围内, 联合使用不同仪器可以运用于胸腹水的白细胞计数中。

关键词: 细胞计数; 显微镜检查; 自动化
DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2013.07.048 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-4130(2013)07-0859-01

临床开展的胸腹水常规分析中, 有核细胞计数是不可或缺的部分, 传统的有核细胞计数为显微镜法, 此法虽为金标准但操作繁琐且易受主观因素影响, 导致结果准确性和重复性较差^[1]。本文利用 UF-1000i 全自动尿沉渣分析仪和 LH750 血细胞分析仪进行胸腹水有核细胞计数, 探讨自动化仪器快速检测计数胸腹水有核细胞的可行性。

1 资料与方法

1.1 标本来源 选择 2012 年 7~12 月本院住院患者胸腹水标本 129 份, 所有标本在 1 h 内完成检测。

1.2 仪器与试剂 Sysmex UF-1000i 全自动尿沉渣分析仪及原装配套试剂、质控品; LH750 血细胞分析仪及原装配套试剂。

1.3 方法 选取 3 份足量胸水标本分别在 UF-1000i 和 LH750 重复测定 20 次, 计算有核细胞结果的 CV 值。显微镜手工法检测严格按照《全国临床检验操作规程》^[2], 以光学显微镜计数将胸腹水有核细胞小于 $100\times 10^6/\mu\text{L}$ 设为 A 组, $(100\sim<500)\times 10^6/\mu\text{L}$ 为 B 组, $(500\sim<1\,000)\times 10^6/\mu\text{L}$ 为 C 组, $\geq 1\,000\times 10^6/\mu\text{L}$ 为 D 组。UF-1000i 全自动尿沉渣分析仪及 LH750 血细胞分析仪分析前均采用仪器配套质控品检测。以上所有检测均计数 3 次取均值。

1.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件分析数据, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

UF-1000i 和 LH750 自动化分析仪测定胸腹水标本的精密度高, 平均 CV 分别为 1.94% 和 1.52%, UF-1000i、LH750 与显微镜手工法有核细胞计数比较见表 1。

表 1 UF-1000i、LH750 与显微镜手工法有核细胞计数比较 ($10^6/\mu\text{L}$)

组别	<i>n</i>	显微镜手工法	UF-1000i 全自动尿沉渣分析仪	LH750 全自动血球分析仪
A	26	47.74±24.56	46.78±23.72	147.83±51.08*
B	31	279.81±106.43	280.00±108.33	377.42±99.03*
C	39	727.18±134.22	729.95±134.85	738.46±128.99
D	33	2 259.21±980.90	1 951.64±998.10*	2 290.91±968.69

*: $P<0.05$, 与手工显微镜法比较。

3 讨 论

本研究 UF-1000i 和 LH750 自动化分析仪测定胸腹水标本的精密度高, 平均 CV 分别为 1.94% 和 1.52%, 可以弥补手工法操作繁琐操作周期长且难以实现统一标准化和实验室之间质量控制的缺点。

由于 UF1000i 对白细胞及上皮细胞的分析设置参数有交叉重叠现象, 因此在运用 UF-1000i 进行有核细胞计数时需要将白细胞与上皮细胞一同纳入计算^[3-4]。与徐(下转第 863 页)

[△] 通讯作者, E-mail: lhw, shuguang@yahoo.com.cn。