



免疫法糞便潛血試驗 使用指引

草案版

台灣醫事檢驗學會 www.labmed.org.tw

Taiwan Society of Laboratory Medicine

免疫法糞便潛血試驗使用指引

目錄 內容	頁數
一、背景介紹	1
二、原理	
1. 免疫層析法	1
2. 乳膠粒子凝集法	2
3. 金膠粒免疫比色法	2
4. 免疫血球凝集法	2
三、檢體之採集、運送與保存	
1. 檢體之採集、運送與保存	2
2. 採集糞便時應注意下列事項	2
3. 容器與添加物	3
四、儀器和試劑之選擇、使用與管理	
1. 所需的儀器設備與試劑	3
2. 試劑之使用與管理	3
3. 自動分析儀器之維護保養與管理	3
五、操作步驟	4
六、校正	4
七、品管	
1. 內部品管	5
2. 外部品管	5
八、限制	
1. 受檢者之限制	5
2. 檢驗限制	5
九、安全	6
十、廢棄物處理	6
十一、附件	
附件一：免疫法糞便潛血試驗品管紀錄表	7
附件二：Fecal Occult Blood Test QC Record	8

免疫法糞便潛血試驗使用指引

中華民國 95 年 08 月 17 日 制定

中華民國 100 年 10 月 20 日 修訂第一版

一、 背景介紹：

糞便潛血試驗於臨床上是用於檢測腸胃道疾病出血，如：消化性潰瘍、腸道發炎、大腸癌和大腸直腸癌等。美國癌症協會也建議：五十歲以上之成人應每年做一次糞便潛血篩檢，以期能早期發現大腸癌或腫瘤；依文獻之研究報告，進行糞便潛血篩檢，可以降低大腸直腸癌的發生率或死亡率。^{1,2,3}

糞便潛血試驗依反應原理可分為化學法與免疫法，其中，化學法因為是利用血紅素中之部分結構 Heme 具有過氧化酶的活性，而使氧化還原反應進行，缺乏對人類血液之專一性，因此採集檢體前三天開始即必須限制某些食物(如紅肉、動物血及含過氧化酶的蔬菜)、非類固醇消炎藥物及鐵劑的攝取，以減少偽陽性反應；另外，維生素 C 之攝取則可能會造成偽陰性的結果。

糞便潛血免疫法則是利用針對人體血紅素反應的抗血清或抗體進行抗原抗體反應，因此專一性高，不會受到食物過氧化酶、動物血和維他命 C 影響，並且有較高的敏感度，適合對糞便中低濃度的潛血檢測；然而，因為是抗原抗體反應，所以要特別注意檢體的保存(也就是備有檢體保存液)，以免血紅素受糞便中細菌破壞而導致偽陰性結果；另外，也要注意定量採檢，以避免抗原(血紅素)過多而導致反應偽陰性(Hook effect)。化學法檢測原理，因不受血紅素抗原性被細菌破壞的影響，適合檢測上消化道出血。

二、 原理：

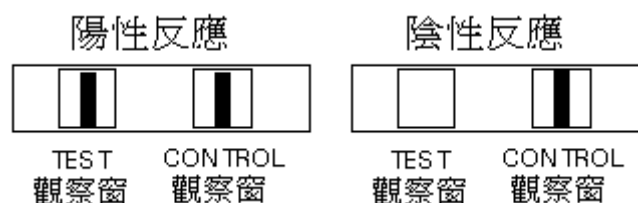
1. 免疫層析法(Immunochromatographic assay; ICA)：

1.1. 陽性反應：

試劑條上有老鼠抗人類血紅素抗體(anti-hHb)，檢體中若有人類血紅素，會與附著有 anti-hHb 的顏色膠粒形成結合物，結合物泳動至 Test 觀察窗，與 Test 觀察窗內的 anti-hHb 二次抗體結合而呈現色帶，此為陽性反應，多餘的 anti-hHb 繼續泳動至 Control 觀察窗，與觀察窗的 Anti-mouse IgG 非特異抗體結合而呈現色帶，此為滴入合適檢體量與反應膜內進行液體正常毛細作用的品管參考。

1.2. 陰性反應：

假使檢體中沒有人類血紅素，就沒有結合物與 anti-hHb 二次抗體結合，Test 觀察窗就不會出現色帶，此為陰性反應，但 anti-hHb 仍會泳動至 Control 觀察窗，與觀察窗內的 Anti-mouse IgG 結合而呈現色帶。

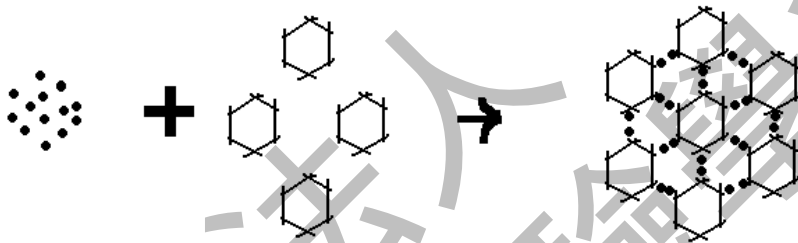


2. 乳膠粒子凝集法(Latex agglutination method)

將聚苯乙烯(polystyrene)乳膠顆粒以人類紅血球抗體調製成的敏感化乳膠溶液，將此敏感化乳膠溶液與檢體在比色管中混合反應，若檢體中具有人類血紅素，則會與敏感化乳膠溶液形成抗原抗體反應，產生乳膠凝集反應。此方法常用於定量測定，由已知濃度標準液的標準曲線，再經由檢體反應管測光(主波長為 660nm)，即可依吸光度對照標準曲線求得血紅素量。

3. 金膠粒免疫比色法(Colloidal gold colorimetry)

金膠粒試劑中的金膠粒表面包覆著抗人類血紅素單株抗體(Anti-human Hb monoclonal antibody)，此粒子可和糞便中的人類血紅素相結合而產生凝集反應，使金膠粒的顏色由原來的酒紅色轉變為藍灰色。顏色的改變可用肉眼判定(定性法)，亦可使用儀器自動偵測吸光度的變化(定量法)。可用的儀器包括專用的分析儀和一般生化分析儀，主波長為 540nm。



4. 免疫血球凝集法(Immunological hemagglutination)

免疫血球凝集法測試原理是以具人類血紅素抗原專一性的抗體連結在雞的紅血球作為檢驗試劑，與所要檢測之糞便潛血中人類血紅素成分結合後產生明顯可見的凝集反應。

三、 檢體之採集、運送與保存：

1. 檢體之採集、運送與保存：

為提升大腸癌篩檢檢驗結果之正確率，針對糞便採檢流程，宜由醫事人員對民眾進行口頭說明，告知民眾相關採檢流程及注意事項，並提供書面的衛教單張。糞便採檢流程衛教重點如下：

- 1.1. 因為糞便中的血液分布不均，且糞便通過病變部位時，血液多附著於糞便的表面，因此，在採便取樣時，請民眾在糞便表面的不同地方盡量擦過多次取樣。
- 1.2. 有關採便取樣時之採便量，建議只要採集能蓋滿採便棒的溝槽或毛刷之少許量即可。
- 1.3. 採便取樣後，採便棒一次插入採便管中即可取得檢驗所需的糞便量，不需重複多次插入採便管。
- 1.4. 採便取樣後之採便管，建議於採檢當天立即送回檢驗室，若無法立即送回檢驗室，請民眾將採便取樣後之採便管放置於陰涼處，並盡速送回檢驗室檢驗。
- 1.5. 檢驗室於收到採便管時，原則上以當天檢測為佳，若無法於當天立即測定時，應將採便管冷藏保存(4°C)，並盡速完成檢驗。

2. 採集糞便時應注意下列事項：

- 2.1. 受檢者不須特別限制食物，有痔瘡便秘出血、血尿或月經期間不適合做此檢驗。
- 2.2. 若遇水便情形不易採便時，請改日再取。
- 2.3. 特定採便管具有定量採集糞便檢體之功能，請勿將採便管中之液體倒出，或任意於

採便管中加入其他液體。非經由特定採便管所採集之糞便檢體不可用於免疫法糞便潛血試驗。

3. 容器與添加物

3.1. 特定採便容器：

因廠牌不同而有所不同，常見者有(1)螺紋式採便容器；(2)毛刷式採便容器；(3)棒狀採便容器。其中以螺紋式採便容器的定量採便效果最佳，採便量 CV 值可小於 10%。

3.2. 緩衝保存液：

用於保存糞便中的人類血紅素，防止因酵素和細菌的分解破壞而降低血紅素的抗原性，其成份因廠牌而有所不同。室溫保存即可。有效期限依廠商標示。

四、 儀器和試劑之選擇、使用與管理：

1. 所需的儀器設備與試劑：

1.1. 定性法：

1.1.1. 不需使用儀器。

1.1.2. 試劑：使用市售的試劑套組(kit)，使用前應詳讀廠商的試劑說明書。

1.1.3. 保存條件、保存溫度與保存期限依廠商指示。

1.2. 定量法：

1.2.1. 需使用專用的分析儀或一般生化分析儀。市面上主要有二種廠牌的專用分析儀：

1.2.1.1. Eiken (日本)：OC-SENSOR MICRO 或 OC-SENSOR DIANA。

1.2.1.2. KYOWA(日本)：HM-JACK。

1.2.2. 試劑：使用市售的試劑套組(kit)，使用前應詳讀廠商的試劑說明書和儀器操作說明書。

1.2.3. 保存條件、保存溫度與保存期限依廠商指示。

2. 試劑之使用與管理：

建議依照各試劑說明書的指示執行，當試劑批號更換時，應重新校正，並以品管液確效，以避免因不同批號試劑產生差異。

3. 自動分析儀器之維護保養與管理：

3.1. 儀器之維護管理要定期實施，維護管理之頻率建議分成每天、每週、每月及每年。

3.2. 儀器之維護管理需制定「儀器維護保養管理表」，實施的日期與內容皆需留存紀錄，有助於發生故障時的原因追查；紀錄保存年限依據權責衛生管理機構訂定辦理。

表一、儀器維護保養管理表(範例)

	內容
每天之維護檢查	儀器表面及內部之清潔
	測試檢體前緩衝液之沖洗(Prime)【重點】
	試劑、緩衝液、清洗液及紀錄紙殘留量之確認
	廢棄物之丟棄
	分注臂動作之確認
	吸液管路暢通之確認【重點】
	內部品管(Quality Control)之確認
	在起動時 Cell blank 之確認
	結束時檢體探針(Sample Probe)及試劑探針(Reagent Probe)之清洗【重點】
每週之維護檢查	試劑放置處之清潔
	廢液放置處之清潔
	試管架(檢體架)之清潔
	沖洗噴嘴之檢查
每月之維護檢查	試管架運送感應器(Cell Sensor)之清潔
每年一次	由廠商來做檢查及維修
	消耗品定期更換

五、 操作步驟：

1. 操作免疫法糞便潛血檢驗前，需先確認以下 3 點：
 - 1.1. 以目視方法檢查採便管內含有糞便。
 - 1.2. 建議使用振盪器(Vortex)以確認採便棒溝槽中的糞便與採便管中溶液充分混合均勻，且於上機前請確認採便管內沒有氣泡殘留。。
 - 1.3. 使用自動分析儀測定前，需先檢查機器管路充滿緩衝液(確認管路沒有氣泡產生)。
2. 為增進檢體辨識的正確性，建議以條碼辨識，並能自動傳送檢驗結果至電腦系統為佳，若為人工鍵入檢驗報告，則宜由第二位醫檢師覆核確認無誤。
3. 除上述各點外，請依廠商試劑說明之操作流程操作。

六、 校正：

1. 校正程序：
 - 1.1. 定性法：不需校正。
 - 1.2. 定量法：應做校正。
 - 1.2.1. 參考物質(標準品)：使用冷凍乾燥的人類血紅素，附於試劑套組(kit)。
 - 1.2.2. 校正步驟：依各儀器操作說明書操作，不可任意更改。
 - 1.2.3. 校正頻率：除自行制訂之定期校正外，當試劑批號更換時，應重新校正，並以品管液確效，以避免因不同批號試劑產生差異。
2. 測定、判讀及參考值：依各儀器操作說明書操作，不可任意更改。

七、 品管：

1. 內部品管：

1.1. 定性法：

1.1.1. 試劑卡夾內建品管窗或品管線確認檢體流量、流速為正確，若在指定時間內未出現指示線代表試驗有瑕疵，需重作實驗。

1.1.2. 使用陽性及陰性品管液：

(1) 建議購買市售陽性品管液，若無法購買，可用洗滌之全血，經過溶血後取上清液，並用血球計數器計算血紅素濃度，再經適當稀釋至試劑敏感度以上之濃度測試之。

(2) 陰性品管：未使用過之採便器內的保存液可作為陰性品管。

1.2. 定量法：

1.2.1. 建議使用兩種濃度之市售品管液以監控內部品管精確度。

1.2.2. 在每次操作檢體時，應同時執行兩種濃度品管液之內部品管，以隨時監控內部品管精確度。

1.2.3. 內部品管檢驗值之可接受範圍，不能直接採用原廠之建議值(因範圍太寬)，建議以同批號品管液測至少 20 點後所自行計算出之 SD 值(標準差)，並以 $MEAN \pm 3SD$ (自行計算之 SD) 做為品管檢驗值可接受範圍。

1.2.4. 內部品管發生異常時應做註記及處理，並留存相關紀錄。

1.2.5. 使用不同批號品管液前，宜進行新舊批號品管液之平行測試。

2. 外部品管：定期參加院外免疫法糞便潛血反應能力試驗，以為定性或定量法驗證。

八、 限制：

1. 受檢者之限制：

1.1. 受檢者若有痔瘡便秘出血、血尿或月經期間可能會干擾實驗結果，可能會引起免疫法的偽陽性。

1.2. 酒精及一些藥物如 aspirin, indomethacin, reserpine, phenylbutazone, corticosteroids，及抗過敏非類固醇的藥物，可能會在有些病人身上造成腸胃刺激不間斷出血，可能會引起免疫法的偽陽性。

2. 檢驗限制：

2.1. 試劑只能提供體外診斷使用。

2.2. 陽性結果需再用其他方法確認正確原因和糞便中潛血的來源。

2.3. 陰性結果也可能發生在腸胃疾病人身上，如結腸息肉和結腸直腸癌病人可能只是發生間些性出血，或只是發生在幾個階段。

2.4. 偽陰性可能發生在潛血不是非常均勻分佈在糞便情況，若臨床症狀有懷疑時請重做實驗。

2.5. 強烈懷疑病人檢體應為陽性結果，是因為免疫法的勾狀效應(Hook Effect)而產生偽陰性結果，必須將檢體適當稀釋後重測，或施以化學法檢測。

2.6. 懷疑病人是上消化道微量出血，產生偽陰性結果，必須施以化學法檢測。

3. 除上述各點外，請參考各廠牌說明書上有關受檢者及檢驗限制，使用限制或注意事項等之內容，配合遵行。

九、 安全：

請遵守實驗室安全準則。

十、 廢棄物處理：

依國家相關法令處理。

十一、 附件：

1. 附件一：免疫法糞便潛血試驗品管紀錄表(範例 2 levels)
2. 附件二：Fecal Occult Blood Test QC Record(範例 3 levels)

參考文獻：

1. Mandel JS, Bond JH, Church TR et al. Reducing mortality from colorectal cancer by screening for fecal occult blood. N Engl J Med 1993; 328: 1365-71.
2. Hardcastle JD, Chamberlain JO, Robinson MHE et al. Randomised controlled trial of faecal-occult-blood screening for colorectal cancer. Lancet 1996; 348: 1472-7.
3. Kronborg O, Fenger C, Olsen J et al. Randomised study of screening for colorectal cancer with faecal-occult-blood test. Lancet 1996; 348: 1467-71.
4. 愛知縣臨床檢查標準化協議會(AiCCLS:Aichi Committee for Clinical Laboratory Standardization) 愛知縣臨床檢查標準化指針「免疫學大便血紅素檢查手冊」平成 22 年 8 月第一版
5. 市售免疫法糞便潛血試劑各廠牌說明書

免疫法糞便潛血試驗使用指引制定工作小組：

高全良、施勇綸、張來發、甯孝真、楊雅倩、蔡宗仁、謝文祥(按姓氏筆劃順序)。

免疫法糞便潛血試驗使用指引修訂工作小組：

朱益民、范秀琴、施勇綸、甯孝真、楊雅倩(按姓氏筆劃順序)。

附件一

免疫法糞便潛血試驗品管紀錄表(範例 2 levels)

年 月

試劑名稱 (廠牌)：

品管檢體名稱 (廠牌)：

Neg Lot： Exp Date：

Pos Lot： Exp Date：

日期	Neg Control		Pos Control		簽章	日期	Neg Control		Pos Control		簽章
	(-)	(+)	(-)	(+)			(-)	(+)	(-)	(+)	
1						16					
2						17					
3						18					
4						19					
5						20					
6						21					
7						22					
8						23					
9						24					
10						25					
11						26					
12						27					
13						28					
14						29					
15						30					
-						31					

XR-

附件二

Fecal Occult Blood Test QC Record (範例 3 levels)

QC Material: FOBTROL

Lot No.:

Exp Date:

Month: Year:

Control Date	Negative		1: 20,000(+)		1: 40,000(+)		QC
	Negative	Positive	Negative	Positive	Negative	Positive	Med Tech
1							
2							
3							
4							
5							
6							
7							
8							
9							
10							
11							
12							
13							
14							
15							
16							
17							
18							
19							
20							
21							
22							
23							
24							
25							
26							
27							
28							
29							
30							
31							

主任：

品質負責人：