

## 3 种胃内容物潜血试验的方法学评估

张茹 柏明见 冯雪 安雨 梁国威

作者单位: 100049 北京, 航天中心医院检验科

通信作者: 梁国威, Email: bmjbmj300@126.com

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2019.03.010

**【摘要】** 目的 对 3 种胃内容物潜血试验(OBT)进行方法学评估,建立最佳检测体系。方法 选择 2016 年 1 月 19 日—2017 年 8 月 28 日在航天中心医院重症加强治疗病房(ICU)住院的 155 例患者作为研究对象,排除 2 例呕吐物非胃内容物者以及 50 例禁食 < 3 d 者,最终纳入 103 例患者。在正常胃内 pH 值条件下确定 3 种胃内容物 OBT 试验[包括化学法、血红蛋白(Hb)单抗法和转铁蛋白(TRF)单抗法]的最低检测下限,在模拟胃内低 pH 值(pH=1.2)条件下确定最低检测下限和最佳检测时间,对纳入研究的 103 例患者进行胃内容物潜血测定,比较各检测方法的阳性率并建立最佳检测方案。结果 在正常胃内 pH 值条件下,化学法、Hb 单抗法和 TRF 单抗法的最低检测下限分别为 10 mg/L、0.8 mg/L、40 μg/L;在模拟胃内低 pH 值条件下:化学法的最佳检测时限为 1 h,检测下限仍为 10.0 mg/L;Hb 单抗法的检测下限受影响最大,在 15 min 时已上移至  $1.0 \times 10^2$  mg/L;TRF 单抗法的最佳检测时限为 1 h,检测下限仍为 40 μg/L。胃内容物潜血试验显示,Hb 单抗法和 TRF 单抗法的阳性率均明显高于化学法[56.31% (58/103)、66.99% (69/103) 比 37.86% (39/103),均  $P < 0.05$ ],而 TRF 单抗法的阳性率又明显高于 Hb 单抗法[66.99% (69/103) 比 56.31% (58/103),均  $P < 0.01$ ]。3 种方法联合诊断的阳性率为 68.93% (71/103),化学法与 Hb 单抗法联合诊断的阳性率为 60.19% (62/103)、化学法与 TRF 单抗法联合诊断的阳性率为 67.96% (70/103)、Hb 单抗法与 TRF 单抗法联合诊断的阳性率为 68.93% (71/103),其中化学法与 Hb 单抗法的联合阳性率明显低于其他联合阳性率( $P < 0.05$ )。结论 在检测胃内容物潜血时,以 TRF 单抗法的阳性率最高;在联合检测胃内容物潜血时,Hb 单抗法与 TRF 单抗法联合检测效果最佳。

**【关键词】** 胃内容物; 潜血试验; 化学法; 血红蛋白单抗法; 转铁蛋白单抗法; 检测方法; 评估

### Methodological evaluation of three methods for detection of occult blood in gastric content

Zhang Ru, Bai Mingjian, Feng Xue, An Yu, Liang Guowei. Department of Clinical Laboratory, Aerospace Central Hospital, Beijing 100049, China

Corresponding author: Liang Guowei, Email: bmjbmj300@126.com

**【Abstract】 Objective** To methodologically evaluate 3 types of occult blood test (OBT) for detection of occult blood in the gastric content aspirated by nasogastric aspiration tube to establish the best detection system. **Methods** A total of 155 patients admitted in intensive care unit (ICU) of Aerospace Central Hospital from January 19, 2016 to October 28, 2017 were consecutively enrolled in the present study, two patients with non-gastric vomit and 50 patients having fasting for less than 3 days were excluded from the study, and finally, 103 subjects were included in this report. Firstly, under the intra-gastric normal pH situation, the lowest detection limits of the three gastric content OBTs were determined [including chemical method, hemoglobin (Hb) monoclonal antibody method and transferrin (TRF) monoclonal antibody methods]. Secondly, the lowest detection limit and the best detection time were determined under the condition of simulated intra-gastric low pH (pH = 1.2). Finally, the 103 patients underwent of gastric content OBTs; the detection positive rates of the 3 types of OBTs were compared and the best detection system was established. **Results** Under normal intra-gastric pH conditions, the minimum detection limits of chemical method, Hb monoclonal antibody method and TRF monoclonal antibody method were 10 mg/L, 0.8 mg/L and 40 μg/L, respectively; under simulated intra-gastric low pH conditions, the optimal detection time limit of chemical method was 1 hour, and the lowest detection limit was still 10.0 mg/L; the lowest detection low limit of Hb monoclonal antibody method was affected the most, which had moved up to  $1.0 \times 10^2$  mg/L in 15 minutes; the optimal detection time limit of TRF monoclonal antibody method was 1 hour, the lowest detection limit was still 40 μg/L. The gastric

content OBTs showed that the positive rates of Hb and TRF monoclonal antibody methods were significantly higher than the positive rate of the chemical method [56.31% (58/103), 66.99% (69/103) vs. 37.86% (39/103), respectively, all  $P < 0.05$ ], and the positive rate of TRF monoclonal antibody method was higher than that of the Hb monoclonal antibody method [66.99% (69/103) vs. 56.31% (58/103), all  $P < 0.01$ ]. The positive rate of combination of the three methods was 68.93% (71/103), the positive rate of chemical method combined with Hb monoclonal antibody method was 60.19% (62/103), the diagnostic positive rate of chemical method combined with TRF monoclonal antibody method was 67.96% (70/103), the positive rate of combination of Hb and TRF monoclonal antibody methods for diagnosis was 68.93% (71/103), in the above combination test results, the combined positive rate of chemical and Hb monoclonal antibody tests was obviously lower than any one of the other combined results ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** TRF monoclonal antibody method has the highest positive rate among the 3 types of OBTs for detecting occult blood in gastric content, and the effect of positive rate of combination of Hb monoclonal antibody and TRF monoclonal antibody method is the best, so that this combination is recommended.

**【Key words】** Gastric content; Occult blood test; Chemical method; Hemoglobin monoclonal antibody; Transferrin monoclonal antibody; Detection method; Evaluation

上消化道出血是临床遇到的常见问题,往往需要禁食、胃肠减压等处理,其中也有部分患者是上消化道出血患者。内镜检测是诊断消化道出血的金标准<sup>[1]</sup>,但在临床实际情况中,部分患者因病情危重,不具备行内镜检查的条件。因此胃内容物潜血试验(occult blood test, OBT)常用于辅助判断患者是否存在上消化道出血。OBT的常用方法有化学法、血红蛋白(hemoglobin, Hb)单抗法,近年来转铁蛋白(transferrin, TRF)单抗法也逐步用于辅助诊断消化道出血。但目前尚未确立一种针对胃内容物潜血试验的成熟的检测体系,该体系需达到阳性率高、不易受 pH 影响等要求,因此本研究拟完成以下目标:① 首先验证化学法、Hb 单抗法、TRF 单抗法 3 种方法的最低检测下限;② 在模拟胃酸条件下,确定各种胃内容物潜血试验的最佳检测时限;③ 比较各检测方法阳性率的差异,确定阳性率最高的方法;④ 比较各检测方法组合后阳性率的差异,确立最佳的方法组合。现报告如下。

## 1 资料与方法

**1.1 研究对象** 选择 2016 年 1 月 19 日—2017 年 8 月 28 日在本院重症加强治疗病房(intensive care unit, ICU)住院患者 155 例,排除 2 例呕吐非胃内容物者和 50 例禁食 < 3 d 者(避免饮食对化学法产生影响)52 例,最终纳入患者 103 例。

**1.2 伦理学** 本研究符合医学伦理学标准,经医院伦理委员会批准(审批号:YN20151021),所有检测和治疗均获得过患者或家属的知情同意。

### 1.3 检测下限的验证

**1.3.1 正常胃内 pH 值条件下检测下限验证** ① 采用化学法(显色底物采用愈创木脂)与 Hb 单抗法

(胶体金法)在同一试剂条上进行测试(万华普曼生物工程有限公司):采集临床血标本检测 Hb(迈瑞 BC-6900 全自动血液分析仪),取 Hb 为 100 g/L 的标本分别稀释浓度至  $1.0 \times 10^5$ 、 $1.0 \times 10^4$ 、 $1.0 \times 10^3$ 、 $1.0 \times 10^2$ 、 $1.0 \times 10^1$ 、1.0、0.8、0.6、0.4 和 0.2 mg/L,以检测阳性最低浓度为检测下限。② TRF 单抗法通过胶体金法(万华普曼生物工程有限公司)进行检测:取 TRF 标准品分别稀释浓度至  $4.0 \times 10^6$ 、 $4.0 \times 10^5$ 、 $4.0 \times 10^4$ 、 $4.0 \times 10^3$ 、 $4.0 \times 10^2$ 、 $4.0 \times 10^1$  和  $2.0 \times 10^1 \mu\text{g/L}$ ,以检测阳性最低浓度为检测下限。

**1.3.2 模拟胃内低 pH 条件下不同时间段的检测下限验证** 用市售盐酸将 Hb 和 TRF 样品的 pH 值调整至 1.2,分别在 15、30 min 及 1、2、4、24 h 对调整 pH 后的样本进行检测,稀释梯度同上,确定最佳检测时间。

**1.4 胃内容物潜血检测** 更换新胃肠减压盒,收集新胃内容物,保证标本的检测时限不受影响,15 min 内送至检验科。以 1:1 的比例加入蒸馏水,用震荡混匀器充分混匀 1 min 以上,吸取上清液分别进行 3 种潜血试验。① 化学法结果判读:在 2 min 内判读结果,若颜色变绿为阳性结果,否则为阴性。② Hb 单抗法结果判读:在 5 min 内判读结果,若质控线(C)与反应线(T)同时出现色带为阳性,仅质控线(C)出现 1 条色带而反应线(T)无色带出现为阴性,质控线(C)和反应线(T)均无色带出现或仅反应线(T)出现 1 条色带为无效,应用新条重新进行测试。③ TRF 单抗法结果判读同 Hb 单抗法。

**1.5 统计学方法** 采用 SPSS 16.0 统计学软件处理数据,组间率的比较采用配对四格表  $\chi^2$  检验(即 McNemar 检验)。双侧  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。



及服用药物的影响;③质量控制及结果判读困难,阳性结果的截断值难以确定<sup>[3-4]</sup>。因此化学法在临床应用过程中受限较大,尤其是患者在进食后入院,其阳性结果往往无法排除是由饮食引起还是由消化道出血引起。

与化学法相比,Hb 单抗法的优点为:①灵敏度高,可检测到少量甚至是极少量的出血;②特异性好,不受患者饮食及服用药物的影响;③可根据需要平衡检测敏感性与特异性来设定截断值。但 Hb 单抗法也有许多缺点,包括:①某些特殊 Hb 可能不被 Hb 单克隆抗体识别;② Hb 被降解后导致抗原性丧失;③受消化道出血量影响,出血量较大时抗原过量而导致后带现象,此时可出现假阴性结果。

在临床实际应用过程中,上消化道出血时化学法的阳性率常高于 Hb 单抗法。因上消化道出血时 Hb 在低 pH 值以及有消化酶存在的条件下容易降解<sup>[5]</sup>,靶抗原 Hb 消失,造成结果判读为假阴性<sup>[6]</sup>。为克服 Hb 在消化道中易被降解的缺点,人们发现了在肠道中比 Hb 更稳定的 TRF,因 TRF 不易被消化酶及消化道细菌降解,从而为诊断上消化道出血提供了一条新途径<sup>[7]</sup>。

TRF 是一种由肝脏合成、相对分子质量为 77 000 的  $\beta_1$  球蛋白,主要功能是经膜受体介导将细胞外铁转运至细胞内,血中 Hb 与 TRF 的比例为 51.2:1。如果在胃肠道内检测到 TRF 的存在,常提示有消化道出血的可能<sup>[7]</sup>。有研究显示,检测胃内容物潜血时,Hb 单抗法与 TRF 单抗法联合检测的阳性率高于单纯化学法与 Hb 单抗法联合检测<sup>[8]</sup>,但该研究并未单独将 TRF 单抗法与 Hb 单抗法及化学法进行比较。本研究显示,应用 3 种方法单独检测胃内容物潜血时,TRF 单抗法阳性率最高,考虑结果与实际情况相符,TRF 较 Hb 更稳定,受胃内低 pH 值及消化酶的影响较小。

本研究显示,正常 pH 值条件下 TRF 单抗法检测下限最低,Hb 单抗法次之,化学法最高;模拟胃内低 pH 值条件下,化学法和 TRF 单抗法检测下限及检测时间变化相对较小,而 Hb 单抗法的检测下限及检测时间受影响较大。患者胃内容物潜血检测结果,TRF 单抗法的阳性率最高,联合检测时 3 种方法联合或 Hb 单抗法与 TRF 单抗法联合的阳性率最高。虽然有研究显示,结直肠癌患者中粪便中 TRF 单抗法与 Hb 单抗法阳性率比较差异无统计学意义<sup>[7]</sup>,但正常胃液 pH 值为 0.9~1.8<sup>[9]</sup>,与肠道

中的 pH 相差较大,胃内容物潜血试验有低 pH 值等特殊存在。有研究表明,胃内容物 pH<4 组 Hb 单抗法阳性率明显低于 pH>4 组,比较差异有统计学意义<sup>[10]</sup>。

临床实践中,常联合多种检测方法达到对疾病最优诊疗的目的。本研究显示,3 种方法联合检测的阳性率与 Hb 单抗法联合 TRF 单抗法的阳性率完全一致(均为 68.93%)。考虑化学法易受饮食的影响,使结果难以判读,因此检测胃内容物潜血时,推荐 Hb 单抗法与 TRF 单抗法联合检测。

另外,本研究存在以下不足:①模拟胃内环境时仅考虑低 pH 的因素,未模拟胃内消化酶等因素(如胃蛋白酶等);② 103 例患者均未进行内镜检查,缺乏上消化道出血的直接证据,无法计算 3 种方法诊断胃内出血的敏感性和特异性,需进一步完善相关研究。

综上所述,在检测胃内容物潜血时,以 TRF 单抗法阳性率最高;在联合检测胃内容物潜血时,推荐 Hb 单抗法与 TRF 单抗法联合检测最佳。

#### 参考文献

- Samuel R, Bilal M, Tayyem O, et al. Evaluation and management of Non-variceal upper gastrointestinal bleeding [J]. Dis Mon, 2018, 64(7): 333-343. DOI: 10.1016/j.disamonth.2018.02.003.
- Young GP, Symonds EL, Allison JE, et al. Advances in fecal occult blood tests: the FIT revolution [J]. Dig Dis Sci, 2015, 60(3): 609-622. DOI: 10.1007/s10620-014-3445-3.
- Carroll MR, Seaman HE, Halloran SP. Tests and investigations for colorectal cancer screening [J]. Clin Biochem, 2014, 47(10-11): 921-939. DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2014.04.019.
- Fraser CG, Halloran SP, Allison JE, et al. Making colorectal cancer screening FITTER for purpose with quantitative faecal immunochemical tests for haemoglobin (FIT)[J]. Clin Chem Lab Med, 2013, 51(11): 2065-2067. DOI: 10.1515/cclm-2013-0408.
- Young GP, St John DJ, Rose IS, et al. Haem in the gut. Part II. Faecal excretion of haem and haem-derived porphyrins and their detection [J]. J Gastroenterol Hepatol, 1990, 5(2): 194-203. DOI: 10.1111/j.1440-1746.1990.tb01824.x.
- 黄彩英,胡海军,辛颖.两种方法检测胃液潜血的比较[J].世界华人消化杂志,2007,15(27):2942-2944. DOI:10.3969/j.issn.1009-3079.2007.27.018.
- Chen JG, Cai J, Wu HL, et al. Colorectal cancer screening: comparison of transferrin and immuno fecal occult blood test [J]. World J Gastroenterol, 2012, 18(21): 2682-2688. DOI: 10.3748/wjg.v18.i21.2682.
- Chiang CH, Jeng JE, Wang WM, et al. A comparative study of three fecal occult blood tests in upper gastrointestinal bleeding [J]. Kaohsiung J Med Sci, 2006, 22(5): 223-228. DOI: 10.1016/S1607-551X(09)70240-2.
- 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.
- 张松,常利,孙桂兰,等.pH值对两种方法检测胃内容物潜血影响评价[J].临床荟萃,2014,29(8):914-915. DOI:10.3969/j.issn.1004-583X.2014.08.023.

(收稿日期:2019-08-26)

(本文编辑:张耘菲)