

愛知縣臨床検査標準化指針

「免疫學大便血紅素検査手冊」

第一版

平成22年8月

愛知縣臨床検査標準化協議會

AiCCLS: Aichi Committee for Clinical Laboratory Standardization

前言

在日本大腸癌的罹患率隨著生活習慣的變化(運動不足、飲食歐美化)男女都有增加的傾向。在 2004 年之部位別癌症死亡數在女性為第一位，男性為第 4 位的高死亡率。在這樣的狀況下，大便潛血檢查是為大腸癌早期發現之篩檢法，其有效性經厚生勞働省之癌研究助成金研究班的報告確認。

之前從 1992 年編入老人保健工作當中，以大便潛血檢查篩檢已經普及於全國。在 2007 年在厚生勞働省的「癌對策推進基本計畫」中，要在 5 年內之檢診受診率 50%以上，在所有的鄉鎮市實施精確度管理¹工作考評為目標，提倡使更多的人做正確的「有效的癌篩診」。

以往，大便潛血檢查以化學法為主，由於對於人的血紅素有特異反應的免疫學大便血紅素(以下稱大便 Hb)的檢驗法被開發出來後，作為大腸癌之篩檢法的價值更高了。

此大便 Hb 法以手操作的定性法為主流，但是為降低技術間的差異，以及為達到大量檢體的迅速處理，自動分析機器的導入增加了。

又，有了定量值的檢驗報告，其意義逐漸被重視。同時，在定性檢查不太做的內部精確度管理，現在可以實施了。精確度管理也因此被重視。

現在大便 Hb 檢查有各種不同的方法²測定原理。作為這些大多數的共通的精確度管理方法，2003 年由日本臨床衛生檢查技師會出了「大便一般檢查內部精度管理指針」。但，大便 Hb 檢查，在大便檢體的性質上，採樣及保存等在測定以前有種種的問題，與其他的檢驗相比，精確度管理及標準化並沒有進展。

因此本文對於從採便到保存方法、測定、結果之報告、精確度管理整理唯一本手冊。提高診斷之精確度與檢驗之精確度，為提供高品質的檢驗，如能善用此手冊至感榮幸。

目錄

免疫學大便 Hb 檢驗之作法與要點

- I. 檢體採樣及輸送及保存
 1. 檢體採樣方法
 - 1) 採便方法
 - 2) 採便次數
 - 3) 便器不同時的採便法
 - 4) 採便時的注意事項
 2. 檢體之保存與輸送
 - 1) 於自家時的保存
 - (1) 大便直接保存時
 - (2) 以專用採便容器保存時
 - 2) 檢體輸送時的保存法
 - 3) 檢測單位的保存法
- II. 試劑之使用與管理
 1. 測定方法
 - 1) 目視判定法
 - 2) 自動分析機器判定法
 - (1) 表記法
 - (2) Cut off 值
 - 3) 注意事項
 2. 試劑之管理
- III. 機器之維護、管理事項
 1. 機器之維護管理
- IV. 精確度管理
- V.
- VI.
 1. 內部精確度管理
 - 1) 使用 Control 的方法
 - (1) 目視判定法
 - (2) 機器判定法
 - (3) 內部精確度管理所用的 Control 試料
 - ① 廠商製造

- ② 市售之擬似便
- ③ 自家調製
- 2) 使用患者檢體實施精度管理
 - (1) 由陽性率·陰性率做精確度管理
 - (2) 做重複測定的精確度管理
 - 3) 因應測定原理·測定感度不同的檢驗方法做精確度管理
- 2. 外部精確度管理
- 3. 精確度管理之問題點

V. 參考文獻

編輯後記

免疫法大便血紅素(Hb)檢驗法與重點

檢體採樣法

- 在表面遍及各處採樣
- 採便棒之採便量取可蓋滿溝紋或刷毛的程度(注意勿要太多或太少)
- 插入採便容器中只要一次
- 避開女性生理期
- 使用鉭劑、瀉劑、或灌腸後不要採樣
- 避免與便器(馬桶)中的水接觸 → 利用採使用紙

採便次數

- 建議使用 2 日法

以 2 日法 (兩天各採一次) 來發現大腸癌

檢體保存

採便完成後儘速送檢！

- 暫時保存時要冷藏
- 避開高溫高濕及日光直射

測定方法

- 目視法：Immunochromatography, Latex 凝集法，R-PHA 法
- 儀器判讀：Latex 凝集免疫比濁法，Gold colloid 比色法，磁性粒子凝集法

結果

- 表記法：ng/ml (併記 $\mu\text{g/g}$ 大便)
- Cut off 值：依各廠商、方法而不同，各檢驗單位需依照所使用之試劑進行確認
- 偽陰性之 Check：是否採便量太少、採便方法不當、Prozone 現象
- 偽陽性之 Check：是否採便量過多、生理期當中採便

試劑管理

- 保存溫度與批號管理
- Carry over(前後檢體污染)、對應 Prozone 現象處理之確認

留意日常的管理

儀器管理

- 消耗品之管理
- 污染管理

精確度管理

<內部精確度管理>

- 使用 Control 的方法：X-R 管理圖

<外部精確度管理>

Control Survey，廠商所提供之 Control Survey

I. 檢體採樣與輸送、保存

1. 檢體之採樣法

1) 採便方法

大便 Hb 檢驗因為大便中的血液分布不均，所以適切的採便法非常重要。大腸癌多發生於直腸與乙狀結腸。因此，大便通過病變部位時形成便塊，血液多附著於大便的表面。又，在單側增殖的大腸癌血液的附著部分有限，如果不從廣泛的表面採樣的話，會檢驗不出來。因此，在採便的時候，希望要在便塊的表面上用表面擦過法 (圖 1)

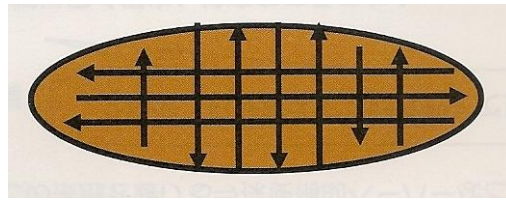


圖 1 表面擦過法：在表面的不同地方盡量擦過多次取樣

此時要注意採便量，採便棒插入容器時要一次完成，大便要確實浸於緩衝液中。採便量只要蓋滿採便棒的溝槽或刷毛即可。但是，一般健康人的大便有極少的 Hb 存在，所以若採便量過多有的會變成偽陽性。然而，太少的話也可能變成偽陰性。水便或硬便時不易採取，採便量不充分，有可能成為偽陰性。尤其是水樣便很難吸附，就要多採到 2 倍左右的量。

H17 年度愛知縣臨床檢查標準化協議會 (AicCLS) 的問卷調查結果，大約有七成以上的檢驗單位是患者自己直接採便 (表 1)

表 1 採便者明細 (H17 年度 AicCLS) 調查結果 愛知縣 137 單位

採便方法	單位數	%
患者自己用專用容器採便	101	73.8
做健診者本人、患者由技師採便	14	10.2
患者、技師雙方採便	10	7.3
外來患者自己、住院者由護士採便	4	2.9
外來患者自己、住院者由技師採便	4	2.9
技師採便到專用容器	4	2.9

由患者自己採便到專用容器的情況，最重要的是讓他了解適切的採便方法與保存方法。提供採便方法的說明書，解說使易懂。(圖 2)

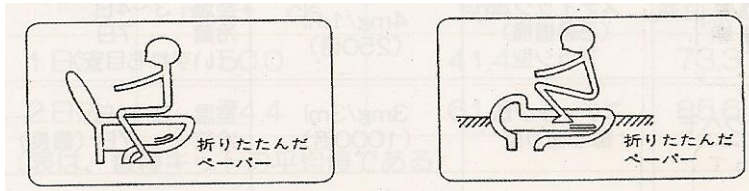
又，用併用同一檢體做寄生蟲檢查時，必須將大便放入別的容器提交。

做大便潛血檢查時之大便採樣法

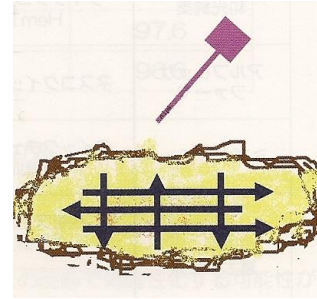
1. 將衛生紙鋪在便器中，將大便排在上面。
不要採集有進到水的地方以避免可能造成偽陰性。

●坐式馬桶

●蹲式馬桶



2. 在大便的各個不同地方廣泛普遍地採便
血液混入大便中並不是均勻的，定點採便可能會採到沒有混入血液的地方。儘量不要在單一處，在大便表面的各個不同地方普遍的擦過是很重要的。

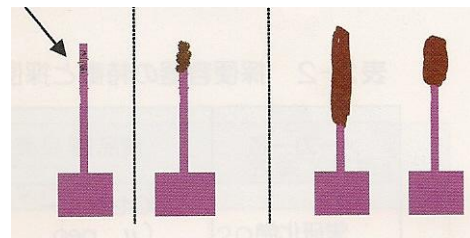


3. 採便量的多少以蓋滿溝槽或毛刷的程度

正常人的消化器官內也有少量的出血。採便量過多時，即使正常人也會有過高的陽性率。這種檢查不像以前的方法需要許多的量。只要採集能蓋滿採便棒的溝槽或毛刷的程度之少許量即可。

溝紋或毛刷 適量

過多



4. 插入容器一次即可
採完便就將採便棒插入採便器。這動作不需要來回好幾次。
插入一次就能夠取得檢驗所需的量。



5. 保存場所希望能冷藏

大便中的血液很不安定。採便後，若放在溫度高的地方過幾天，陽性也會變成陰性。採便後要儘快送驗。沒辦法立即送檢時，要放入冰箱或放有保冷劑的箱子裡面或沒有日照涼快的地方保存，然後儘快地送驗。

圖 2 採便法之說明書例 採便棒法

2. 各廠商為了防止 Hemoglobin 喪失活性為目的或考慮採便的精密度，各自設計專用的採便容器。採便方法及採便量則參照其說明書。(表 2)

表 2-1 採便容器之特徵與採便量：大便 Hb 檢查目視判定 Kit

廠商名	製品名	採便容器(特徵)	採便量/緩衝液量 (稀釋倍率)	可保存的期限
榮研化學	OC-Light	採便棒法 刮除法	10mg/2ml (200 倍)	陰涼處 一周

表 2-2 採便容器之特徵與採便量：大便 Hb 檢查自動分析儀器

廠商名	製品名	採便容器(特徵)	採便量/緩衝液量 (稀釋倍率)	可保存的期限
榮研化學	OC-Sensor (OC-Micro,Diana)	扁平形採便棒(附過濾) 刮除法	10mg/2ml (200 倍)	陰涼處 二周
協和(Kyowa Medix)	HM-JACK	圓形採便棒 刮除法	0.5mg/1.25ml (2500 倍)	冷藏 5 天以內
	HM-JACK plus	方形採便棒 刮除法	2.5mg/2.5ml (1000 倍)	

2) 採便次數

大腸癌的出血，一般來說是間歇性的，最好採複數檢體做檢驗，建議做二日法。二日法較一日法敏感度高，尤其是早期癌更有這傾向。(表 3)

表 3 免疫學大便 Hb 檢驗的敏感度，特異度：一日法相對於二日法 (摘自大腸癌檢診手冊)

	感度(%)			特異度(%)
	m + cis	sm	進行癌	
一日法	50.0	41.4	73.3	97.6
二日法	74.4	61.3	85.6	96.6

(此表為使用數種試劑 Kit 之平均值)

m：黏膜內癌 cis：上皮內癌 sm：到達黏膜下層的癌

3) 使用不同便器之採便法

使用水洗的馬桶，大便會因被沖洗用水稀釋或與洗劑反應而變成偽陰性的可

能。因此，使大便不要接觸到洗淨用水的採便是很重要的。不管坐式（西式）或蹲式（日式）馬桶，都用防止和水接觸的採便輔助用紙最好。

採便輔助用紙，經過一段時間後會變成水溶性，直接沖掉不會造成麻煩。

使用採便輔助用紙時的注意事項：

- 採便要迅速（5分鐘以內）
- 不要沾到水或手濕濕的去拿
- 採完便之前不要沖水
- 在紙張之下墊摺疊衛生紙更佳

不同便器之採便法分類為3種

① 沖水馬桶以外的便器

鋪上報紙或採便輔助紙進行採便

② 坐式馬桶

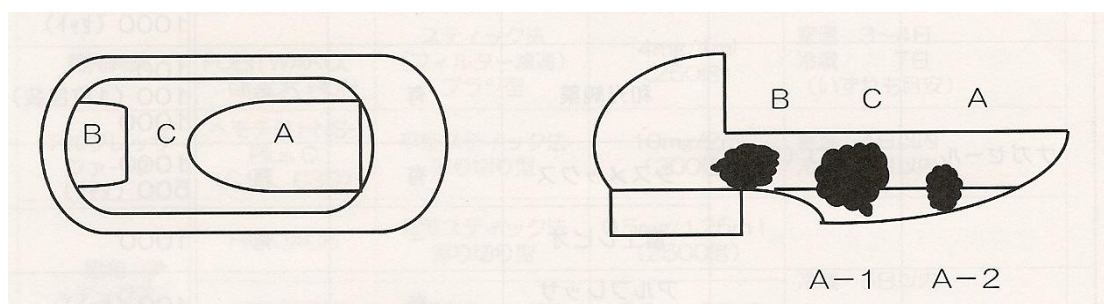
為避免與馬桶水的接觸，將大便排放的馬桶的斜側是重點。坐的方法是像前移或反向的坐。（圖3）



圖3 使用坐式馬桶之採便法

③ 蹲式（日式）馬桶

很難防止雨水接觸到，可以衛生紙將A處的水送出到B處，或者向前蹲移式排便落至較為突起的C處（或反向蹲坐）。日式的馬桶，大致排便會落在A處。例如像A-1時，在水面上的大便量還很多，可採到大多表面。但是，像A-2的話，沒接觸到水部份很少，可能會產生較高的偽陰性。



4) 採便時的注意事項

- 在女性生理期當中有血液混入之虞，不要採便。
- 痔瘡等在肛門附近有出血也會呈現陽性。
- 使用鉭劑、瀉藥、灌腸等，大便會被稀釋而影響採便量，可能變成偽陰性。最好不要採便。

2. 檢體的保存與運送

1) 在自家的檢體保存法

記上採便日期冷藏保存。採便後儘快送檢。

(1) 大便直接保存時

大便中的血紅素放置室溫下，會隨著時間被消化液消化，分解以及細菌的影響，所以檢出率很低。因此，在冷藏保存下須在 48 小時以內，室溫保存則在採便當日送驗。(圖 5)

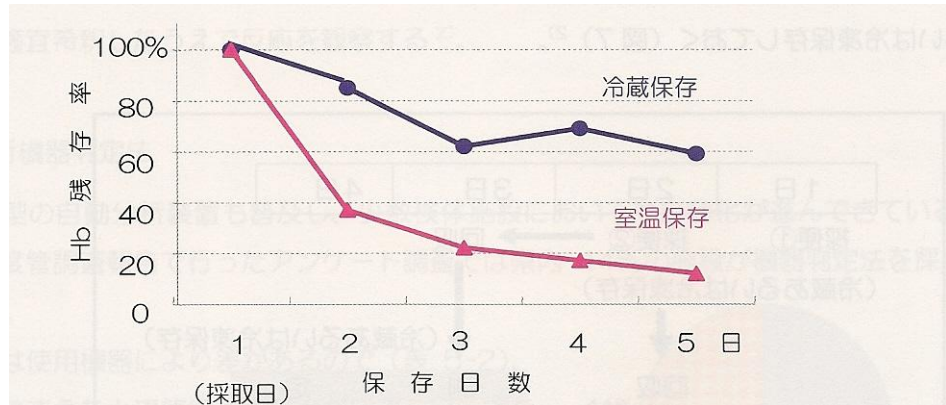


圖 5 大便直接保存時便中血紅素之安定性

(2) 使用專屬容器採便時

一般來說，在 4°C 冷藏保存一周以內比較安定，室溫保存則有陰性化的傾向。(圖 6) 尤其在夏天更須注意，應避開高溫高濕的處所，不受太陽照射。暫時保存時放到冰箱、有保冷劑的 Ice Box 或保麗龍盒內。不得已時，則放在陰涼處保存，儘快送驗。

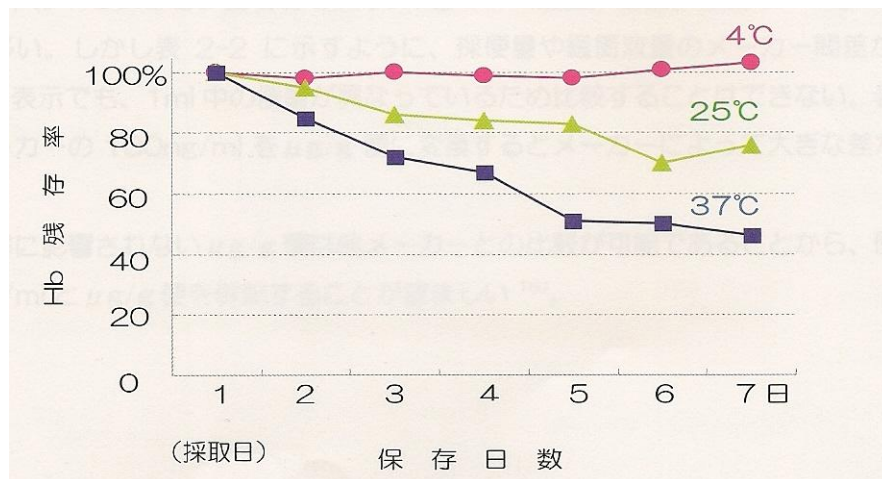


圖 6 使用專屬容器採便時大便中血紅素之安定性

2) 檢體運送時的保存方法

拿到測定單位 (檢驗室) 時，儘量迅速提出。利用郵寄時因為檢體回收之溫度管理困難，尤其在夏天郵包的溫度高，有造成檢體中血紅素劣化，檢驗的精確度下降之虞，原則上不行。

3) 在檢驗單位之保存方法

原則上當天回收檢測，無法完成時以冷藏保存 (4°C) 儘可能迅速檢驗。實際上，有的沒寫上採便日期，所以從採便到回收檢驗是經過多少時間難以掌握。所以，回收後的測定應儘可能迅速進行。萬一無法立即測定，要放在冷藏或冷凍保存。(圖 7)

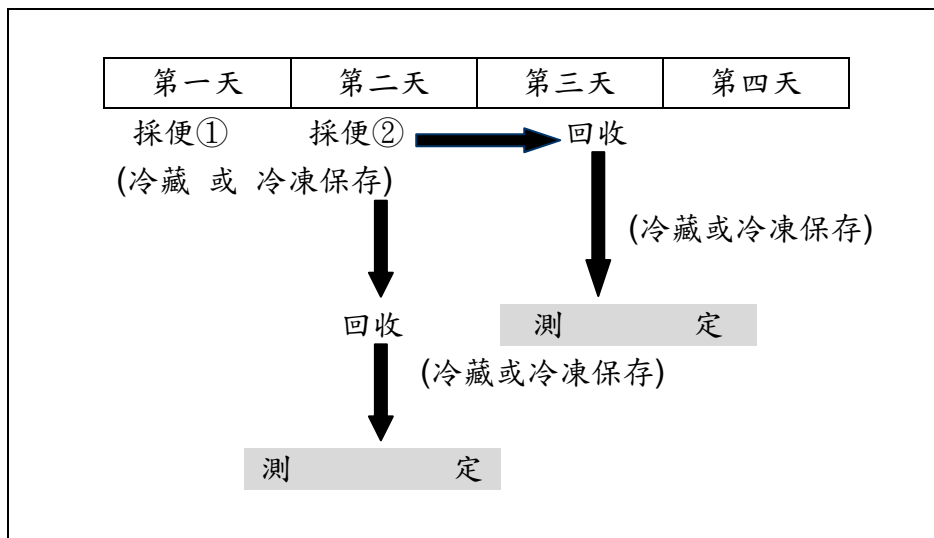


圖 7 從採便到測定為止的天數 (摘自大腸癌檢診手冊)

II. 試劑之使用與管理

1. 測定方法

測定方法分為目視判定與儀器判定（自動分析儀）

1) 目視判定法

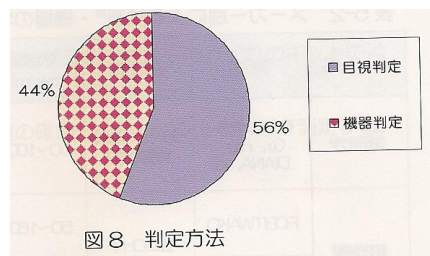
目視判定法因為檢驗者不同容易產生誤差。在不易判定的情況下，希望由兩人以上的技師來確認。另外，由於抗原過剩造成偽陰性的（prozone 現象）。這可由簡易的顏色色調（木炭狀、鮮血等）來判斷。用採便棒的方法無法確認簡易的色調，所以最好能在採便時請受檢者紀錄大便的顏色。

懷疑有 prozone 現象而呈偽陰性時，將檢體抽出液做適當的稀釋再觀察反應的結果。

2) 自動分析儀器之判定法

近年，小型的自動分析儀器也普及了，檢體不多的檢驗單位也進入自動化。H20 年愛知縣做的精度調查報告，縣內已有 44% 的單位採用儀器判定法。（圖 8）

測定範圍因為使用的儀器有所不同。（表 5-2）希望了解儀器的特徵來使用。而且，各種儀器對於 prozone 現象、carry over 等的處理方式不同。所以要先了解它們的特點再使用。



(1) 表記法

大便 Hb 的檢驗報告之數據單位，有以大便 1g 中的 Hemoglobin 量來表示的 "µg/g 大便"（重量/重量），也有以溶液中的 Hemoglobin 量來表示的 "ng/ml"（重量/容量）。但以 "ng/ml" 來表示的為多。但，如表 2-2 所示在採便量、緩衝液量上，各廠商差異很大，所以，雖同樣以 "ng/ml" 表示，但 1ml 中的大便量不同，無法做比較。如表 6 所示各廠商的 100ng/ml 變換成 µg/g 大便時，差異很大。

不受稀釋比率影響的 µg/g 大便表示法，在各廠商之間可做比較。所以，建議再檢驗報告上將 ng/ml 與 µg/g 大便併記。

表 5-1 不同廠牌試劑的特徵(大便 Hb 目視法)

廠牌	產品名	測定原理	測定範圍	檢出感度	試劑保存條件	有無附 Control
EIKEN	OC-light	Immuno-Chromatography	50ng/ml~500µg/ml	50ng/ml (10µg/g 大便)	室溫保存	無
Kyowa medix						

表 5-2 不同廠牌試劑儀器之特徵(大便 Hb 自動分析儀)

廠牌	產品名	測定原理	測定範圍 (ng/ml)	Cut off 值 (廠商建議)	強陽性檢體污染之對策	Prozone 之對策	標準物質
EIKEN	OC-Sensor Micro, Diana	Latex 凝集免疫比濁法	50~1000	100ng/ml (20µg/g 大便)	有使用洗劑清洗的裝置	有 Prozone Check 機能	Human Hemoglobin (Cyanmethemoglobin 法校正)
Kyowa medix	HM-JACK	Latex 凝集免疫比濁法	7~800	12ng/ml 以下 (30µg/g 大便)	拋棄式比色管吸針洗淨	有 Prozone Check 機能	Human Hemoglobin (Cyanmethemoglobin 法校正)
	HM-JACK plus		10~1000	30ng/ml (30µg/g 大便)	比色管之洗淨吸壓		

※所有之試劑保存條件為 2~8℃

表 6 各廠牌之 ng/ml 與 µg/g 大便之換算值:儀器法(各廠商之一例)

廠牌	EIKEN	Kyowa medix
100ng/ml 換算成 µg/g 大便	20µg/g 大便	100µg/g 大便
20µg/g 大便之 ng/ml 濃度	100ng/ml	20ng/ml

(2) Cut off 值

大便 Hb 檢驗之 Cut off 值，到目前尚無統一的見解。應針對篩檢（團體健檢）或診斷檢查（醫院檢查）之目的，需與臨床方面商討來設定。

(3) 注意事項

應先確認採便棒溝槽中的大便有充分的溶解再做測定，特別是在硬便的情況。

2. 試劑之管理

試劑受到日光照射或溼度的影響，會劣化變質。所以，要按照各試劑的說明書的提示進行保存。

試劑批號變更時，要重新製作檢量線，並用 Control 測定。以避免不同批試劑之差異。

III. 儀器之維護保養管理事項

為保持檢驗結果之良好再現性，自動分析儀之機器的日常維護保養與管理很重要。

1. 儀器之維護管理

自動分析儀之維護管理要定期實施（每天、每週、每月）。實施的日期與內容要紀錄下來，有助於發生故障時的原因追查。

測定儀器要保持反應槽與洗淨槽的乾淨，注意避免污染所造成的影響。

表 7 儀器維護保養管理表

	內容
每天之維護 檢查	受光部表面之清潔
	緩衝液之沖洗 (Prime)
	試劑、緩衝液、清洗液、紀錄紙殘留量確認
	廢棄物之丟棄
	分注臂之動作、Control 之確認
	在起動時 Cell blank 之 Check
	結束時之清洗
每週之維護 檢查	試劑放置處之清潔
	廢液部之清潔
	試管架及盤子之清潔
	沖洗噴嘴之檢查
每月之維護 檢查	試管架運送 Sensor 之清潔
每年一次	由廠商來做檢查、維修
	消耗品定期更換

※除了上述以外，要再加上廠商的儀器說明書上所建議的方法及內容來做。

IV. 精確度管理

1. 內部精確度管理

內度精確度管理有使用市售 Control 的方法或使用患者檢體的方法。一般都是使用市售的 Control 來做。用來管理包括不同試劑批號的差異所造成之影響、緩衝液是否變質、有無 Hemoglobin 阻礙物質為目的。若要包含採便的精確度管理則有市售的擬似便。

1) 使用 Control 的方法

(1) 目視判定法

專用的 Control 試料較少，所以是用擬似便或自製的 Control 試料來做精確度管理。尤其因為測定者容易以主觀判定所產生的個人差異，所以在檢出感度附近的陽性比色判定表或用擬似便的 Control 進行 Check 是很重要的。又。Latex 試劑，可用採便容器內的緩衝液作為陰性 Control。

(2) 儀器判定法

建議用廠商製造的、擬似便、或自家調配的 Control 試料來做 X-R 管理圖來執行品管。

(3) 內部精確度管理的 Control 試料

① 廠商製品

表 8 廠商別 Control 一覽表

廠牌	Control 名稱	種類	儀器名稱	保存方法	調製法	溶解後可保存之期限
EIKEN	Hb Control	液態	OC-Sensor Micro,Diana	2~8°C	不需	冷藏 1 年
Kyowa Medix	Extel HM Control	凍結乾燥	HM-JACK HM-JACKplus	2~8°C	以精製水 溶解	冷藏保存 1 週

② 市售之擬似便

作為大便 Hb 測定試劑之日常精確度管理用試料，有以人的 Hemoglobin 為原料的擬似便（陰性、低濃度、高濃度）市售品。對於測定操作法、使用上的注意、貯藏方法等要以所附的說明書記載確認後使用。

③ 自製

使用潛血陽性的大便檢體或人的全血來製作的方法 (表 9)。但有製作手續繁瑣、安定性差的缺點。使用時要確認溶解了再使用。

表 9 自製 Control 的製作方法

1. 使用潛血陽性大便的方法

- ① 潛血陽性的大便檢體加上測定用試劑的專用稀釋液，混和均勻。
- ② 以 3,000 轉、10 分鐘遠心分離後，上清液以 No.5 濾紙過濾。
- ③ 濾液用 0.45 μ m milipore filter 過濾。
- ④ 將濾液用測定用試劑的專用稀釋液調整成需要的濃度，凍結保存。

2. 使用人的潛血的方法

- ① 血液加生理食鹽水以 1,500 轉、5 分鐘遠心分離洗淨兩次。
- ② 沉渣中加精製水使溶血。
- ③ 以 3,000 轉遠心分離 10 分鐘後，以 0.45 μ m milipore filter 過濾上清液。
- ④ 將濾液用測定用試劑的專用稀釋液調整成需要的濃度，凍結保存。

(引用自 宿谷賢一 等 大便 Hemoglobin 檢查之精確度管理)

2) 使用患者檢體之精確度管理

(1) 根據陽性率、陰性率來看的精確度管理

使用患者的檢體來做陽性率、陰性率的確認是有用的。作為在一定期間 (日、週、月) 的變動 Check 的指標。

(2) 重複測定的精確度管理

在日常測定的患者檢體中選擇 3~5 支陽性檢體，保存於 4°C，隔天重複測定。從測定值的差 (R) 和平均值 \bar{x} ，計算出 R/\bar{x} ，以其平均值進行管理。這方法雖沒有像 \bar{x} -R 管理圖那麼高的信

賴度，但可作為精確度管理的情報。

(3) 由不同的測定原理·測定感度的檢驗做精確度管理

由不同的測定原理·測定感度不同的方法的檢驗來確認試劑的狀態或阻礙物質之影響。

2. 外部精確度管理

大便 Hb 檢查之外部精確度管理事由日本臨床衛生檢查技師會與愛知縣臨床檢查技師會等各縣之技師會主辦實施。並且，希望也積極的參加廠商主辦的外部精確度管理。

「日臨技」或各縣技師會等使用擬似便的 Survey，包含從採便器的採樣到試劑的反應性、儀器的精密度等全部的過程都可加以考評。並且不但對於自家的固有誤差得以確認，並且以各廠商為單位或儀器為單位之數據收集狀況、試劑組的誤差因素等可得到多樣的情報。而且，利用各 Survey 報告書，在選擇儀器或試劑成為重要的參考。

廠商主辦的 Survey，多使用 Control 試料，主要是來看試劑的反應性或儀器的精密度為目的。對於採便容器之採樣精密度是不包含的。

3. 在精確度管理上的問題點

在精確度管理上，因為各廠商沒有統一的標準物質，所以現狀標準化仍在延遲當中。今後期盼開發出對於任何廠商的試劑都能得到相同反應的試料。

<編輯後記>

免疫學大便 Hb 檢查，對於大便這種具有的固定誤差之檢體，其採便容器或測定方法、結果報告的方法、感度之設定，在錯誤的試行當中被開發出來。作為大腸癌健診之篩檢法被多數的檢驗機構採行。但是，此檢驗由患者（受檢者）自行採便的為多，適切的採便指導，可說是掌握較高的精確度之關鍵。為此，基於 evidence 容易明瞭的說明非常重要。

於此，若能善用本手冊，以此為基礎來確立合乎檢驗室各自的精確度管理方法，實施精確度更高的檢驗，是所至盼。

一般檢查研究會 加藤 節子