

临床研究

DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.001804

三种隐血检测法的方法学评价及结果分析

李 月¹, 代震宇², 廖方洪³

(1. 重庆医科大学附属第二医院检验科, 重庆 400014; 2. 重庆市中医院骨科, 重庆 400021;

3. 重庆市北碚区中医院检验科, 重庆 400711)

【摘要】目的:对血红蛋白单克隆抗体免疫胶体金法、血红蛋白与转铁蛋白联合免疫法、匹拉米洞化学法 3 种隐血检测法进行方法学评价,找出高临床符合度的隐血检测方法。**方法:**配制不同浓度的血红蛋白液,测出以上 3 种方法的最低检出限与最高检测浓度;利用 5 种常见动物的抗凝血评价隐血检测方法的特异性;收集住院患者粪便和胃液标本同时进行 3 种方法的隐血检测,内镜检查为金标准,计算临床灵敏度、临床特异性、阴性似然比、阳性似然比、尤登指数、临床符合率。**结果:**凯创试剂卡胶体金的检测范围为 200 ng/mL 至 10 mg/mL,沃文特试剂卡胶体金的检测范围为 300 ng/mL 至 2.5 mg/mL,匹拉米洞化学法的最低检测限为 2 500 ng/mL,联合免疫法的最低检测限为 10 ng/mL;凯创试剂卡胶体金、沃文特试剂卡胶体金、匹拉米洞化学法、联合免疫法检测粪便与胃液隐血临床符合率分别为 96.0%、95.8%、79.5%、97.5%;92.9%、92.9%、94.6%、90.2%。粪便隐血检测的结果,4 组间有明显的差异($P=0.000$),但胃液隐血检测结果组间无差异($P=0.083$)。**结论:**粪便标本的隐血检测,联合免疫法的临床符合度优于血红蛋白免疫法,血红蛋白免疫法优于化学法;胃液标本的隐血检测,3 种方法之间无明显差异。

【关键词】隐血;消化道出血;匹拉米洞法;血红蛋白;转铁蛋白

【中图分类号】R446.133

【文献标志码】A

【收稿日期】2017-02-20

作者介绍:李 月, Email:liyuesun2004@163.com,

研究方向:临床检验诊断学。

优先出版: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20180704.1014.004.html>
(2018-07-05)

参 考 文 献

- [1] Natoli JL, Manack A, Dean B, et al. Global prevalence of chronic migraine: a systematic review [J]. Cephalalgia, 2010, 30(5): 599-609.
- [2] Buse DC, Manack AN, Fanning KM, et al. Chronic migraine prevalence, disability, and sociodemographic factors: results from the American Migraine Prevalence and Prevention Study [J]. Headache, 2012, 52(10): 1456-1470.
- [3] Silberstein SD, Lipton RB, Sliwinski M. Classification of daily and near-daily headaches: field trial of revised IHS criteria [J]. Neurology, 1996, 47(4): 871-875.
- [4] Headache Classification Committee of the International Headache Society (IHS). The international classification of headache disorders, 2nd edition [J]. Cephalalgia, 2004, 24(s1): 9-160.
- [5] Olesen J, Boussier MG, Diener HC, et al. New appendix criteria open for a broader concept of chronic migraine [J]. Cephalalgia, 2006, 26(6): 742-746.
- [6] Headache Classification Committee of the International Headache Society (IHS). The international classification of headache disorders, 3rd edition (beta version) [J]. Cephalalgia, 2013, 33(9): 629-808.
- [7] Silberstein SD, Lipton RB, Dodick DW. Operational diagnostic cri-

teria for chronic migraine: expert opinion [J]. Headache, 2014, 54(7): 1258-1266.

- [8] Zeeberg P, Olesen J, Jensen R. Medication overuse headache and chronic migraine in a specialized headache center: field-testing proposed new appendix criteria [J]. Cephalalgia, 2009, 29(2): 214-220.
- [9] Cevoli S, D'amico D, Martelletti P, et al. Underdiagnosis and undertreatment of migraine in Italy: a survey of patients attending for the first time 10 headache centres [J]. Cephalalgia, 2009, 29(12): 1285-1293.
- [10] Shand B, Goicochea MT, Valenzuela R, et al. Clinical and demographic characteristics of patients with medication overuse headache in Argentina and Chile: analysis of the Latin American Section of CO-MOESTAS Project [J]. J Headache Pain, 2015, 16: 83.
- [11] Dong Z, Chen X, Steiner TJ, et al. Medication-overuse headache in China: clinical profile, and an evaluation of the ICHD-3 beta diagnostic criteria [J]. Cephalalgia, 2015, 35(8): 644-651.
- [12] Yalın OÖ, Uluduz D, Özge A, et al. Phenotypic features of chronic migraine [J]. J Headache Pain, 2016, 17(1): 1-6.
- [13] Huang Q, Li W, Li N, et al. Elevated blood pressure and analgesic overuse in chronic daily headache: an outpatient clinic-based study from China [J]. J Headache Pain, 2013, 14: 51.
- [14] Cho SJ, Song TJ, Chu MK. Outcome of chronic daily headache or chronic migraine [J]. Curr Pain Headache Rep, 2016, 20(1): 2.

(责任编辑: 方 济)

Evaluation and analysis of three methods of occult blood test

Li Yue¹, Dai Zhengyu², Liao Fanghong³

(1. Department of Clinical Laboratory, the Second Affiliated Hospital, Chongqing Medical University;

2. Department of Orthopedics, Chongqing Traditional Chinese Medicine Hospital;

3. Department of Laboratory, Beibei Traditional Chinese Medicine Hospital)

[Abstract] **Objective:** To evaluate hemoglobin monoclonal antibody immune colloidal gold method, hemoglobin and transferrin combined immunoassay, pyramidon chemical method for occult blood detection and to identify occult blood detection method consistent with clinical practice. **Methods:** Hemoglobin solutions of different concentrations were prepared, and the minimum detection limit and the highest test concentration of the three methods were checked. The specificity of these three occult blood testing methods was evaluated with five kinds of animal blood. Feces and gastric juice specimens of hospitalized patients were collected for three kinds of methods of occult blood test. With endoscopy as the gold standard, the sensitivity, specificity, negative and positive likelihood ratio, and Youden index clinical coincidence rate were calculated. **Results:** Examination area of Kaichuang and Oritent was 200 ng/mL to 10 mg/mL, and 300 ng/mL to 2.5 mg/mL, respectively. The minimum detection limit of pyramidon chemical method and combined immunoassay was 2 500 ng/mL and 10 ng/mL. The clinical coincidence rates of Kaichuang, Oritent, pyramidon chemical method, combined immunoassay in feces and gastric juice were respectively 96.0%, 95.8%, 79.5%, 97.5% and 92.9%, 92.9%, 94.6%, 90.2%. There were obvious differences in fecal occult blood test results between the four groups ($P=0.000$), but no difference was observed in the gastric occult blood detection results between groups ($P=0.083$). **Conclusion:** For feces occult blood test, combined immunoassay is superior to hemoglobin immunization, hemoglobin immune method is better than the chemical method. For occult blood detection of gastric juice specimens, there is no significant difference among the three methods.

[Key words] occult blood; gastrointestinal hemorrhage; pyramidon method; hemoglobin; transferrin

近年来,随着经济的发展和人类生活水平的提高,消化道疾病发病率增高,特别是消化道肿瘤的发病率持续升高^[1],因此消化道疾病的早期筛查尤为重要。粪便隐血检查是公认的消化道疾病的常规筛查项目,隐血检查常见的方法有传统的化学法、血红蛋白单克隆抗体免疫胶体金法(以下简称血红蛋白法)、血红蛋白和转铁蛋白联合免疫法(以下简称联合免疫法)。本课题将对以上 3 种隐血检查方法作临床符合度调查,以期找出最合适有效的检测方法,为临床消化道出血性疾病的早期诊断提供循证学依据。

1 材料与方法

1.1 样本收集

收集 2016 年 2 月至 2016 年 4 月重庆医科大学附属第二医院 400 例粪便标本(其中研究组 200 例为经内镜检查确诊为消化道出血患者的粪便标本,对照组 200 例为正常体检人群粪便标本)、56 例住院患者胃液标本(经内镜检查确诊为胃十二指肠出血患者的胃液标本)、56 例正常胃液标本(经内镜检查未见胃十二指肠出血的标本)。粪便标本研究组

男 102 例,女 98 例,平均年龄(60.0 ± 14.3)岁;粪便标本对照组男 82 例,女 118 例,平均年龄(59.0 ± 12.9)岁。粪便标本组间比较,年龄组间 $t=0.734$,性别组间 $\chi^2=2.010$ 。胃液标本研究组男 34 例,女 22 例,平均年龄(53.4 ± 21.1)岁;胃液标本对照组男 26 例,女 30 例,平均年龄(46.0 ± 18.6)岁。胃液标本组间比较,年龄组间 $t=1.950$,性别组间 $\chi^2=1.150$ 。粪便标本组间与胃液标本组间的性别、年龄在统计学上均无明显差异($P>0.05$)。

收集牛、羊、鸡、鸭、猪 5 种常见动物的 EDTA-K2 抗凝血,用于评价 3 种隐血检测方法的特异性。

1.2 试剂与方法

血红蛋白单克隆抗体免疫胶体金法的卡型试剂盒由上海凯创生物技术有限公司和四川沃文特生物技术公司提供。化学法的匹拉米洞法检测试纸由珠海贝索生物技术有限公司提供。血红蛋白和转铁蛋白联合免疫法的试剂盒由 Artron BioResearch Inc. Burnaby, Canada 提供。匹拉米洞法、血红蛋白法、联合免疫法对待测标本进行的隐血检测操作步骤、结果判断均严格参照各自的说明书进行。注意试剂均应在厂家规定的有效期内使用。

1.3 最低检出限与最高检测浓度的测定

取已知血红蛋白浓度的人全血质控品,先使用蒸馏水稀释打破红细胞,再用生理盐水或者厂家提供的稀释液分别稀

释成高低 2 个浓度段。高浓度:20.0、10.0、5.0、2.5 mg/mL;低浓度:2 500.0、1 250.0、400.0、200.0、80.0、40.0、20.0、10.0、5.0、2.5 ng/mL,分别用凯创试剂卡胶体金、沃文特试剂卡胶体金、联合免疫法、匹拉米洞化学法进行检测。

1.4 特异性检测

将收集的牛、鸡、鸭、羊、猪 EDTA-K2 抗凝血,分别用蒸馏水稀释至 500 $\mu\text{g/mL}$,以血红蛋白浓度为 500 $\mu\text{g/mL}$ 的人血红蛋白悬液为对照组,用凯创试剂卡胶体金、沃文特试剂卡胶体金、联合免疫法、匹拉米洞化学法分别进行检测。

1.5 临床符合度评估

用以上 3 种方法(4 种试剂盒)对 200 份确诊为消化道出血的患者粪便标本,200 份正常体检人群粪便标本,56 例确诊为胃、十二指肠出血患者的胃液标本,56 例正常胃液标本作隐血检测。计算临床灵敏度、临床特异性、阴性似然比、阳性似然比、尤登指数、临床符合率。

1.6 统计学方法分析

数据结果应用 SPSS 17.0 分析软件进行处理,卡方检验判定组间的差异,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结 果

2.1 3 种方法检测范围的比较

结果显示,凯创试剂卡胶体金的检测范围为 200 ng/mL 至 10 mg/mL,沃文特试剂卡胶体金的检测范围为 300 ng/mL

至 2.5 mg/mL,匹拉米洞化学法的最低检测限为 2 500 ng/mL,联合免疫法的最低检测限为 10 ng/mL。3 种方法检测不同浓度血红蛋白溶液的具体结果见表 1。

2.2 特异性检测

血红蛋白法和联合免疫法对牛、羊、鸡、鸭、猪 5 种常见食用动物血的低中高 3 种浓度的检测结果均为阴性,人血红蛋白悬浮液检测结果均为阳性,而匹拉米洞化学法对低中高浓度的 5 种动物血和人血的检测结果均为阳性。低中高 3 种浓度均在血红蛋白法、联合免疫法、匹拉米洞化学法的检出范围内。

2.3 临床符合度评估

表 2 为 3 种方法(4 种试剂盒)对所有收集的粪便标本、胃液标本作隐血检测的阳性例数。其中联合免疫法我们列出:仅出现转铁蛋白(Tf)阳性条带、仅出现血红蛋白(Hb)阳性条带、两者(Tf+Hb)均出现阳性条带的例数。联合免疫法的试剂说明书显示,在质控线出现的情况下,Tf、Hb 任一条带为阳性,则该结果为阳性结果。本课题为比较 3 种检测方法的差异,故将联合免疫法的结果条带进行人为划分。

2.4 3 种隐血方法的比较

3 种隐血方法(4 种试剂盒)在粪便和胃液检查中符合度分别为 96.0%、95.8%、79.5%、97.5%;92.9%、92.9%、94.6%、90.2%(表 3、4)。粪便隐血检测的结果,4 组间有明显的差异($P<0.05$),见表 5。但胃液隐血检测结果组间无差异($P=0.083$),见表 6。

表 1 3 种方法的不同浓度血红蛋白液检测结果

检测方法	高浓度(mg/mL)				低浓度(ng/mL)									
	20.0	10.0	5.0	2.5	2 500.0	1 250.0	300.0	200.0	80.0	40.0	20.0	10.0	5.0	2.5
凯创试剂卡	-	+	++	++	++	++	+	+	±	-	-	-	-	-
沃文特试剂卡	-	-	-	+	+	++	+	±	-	-	-	-	-	-
匹拉米洞化学法	++	++	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
联合免疫	++	++	++	++	++	++	++	+	+	+	+	+	±	-

表 2 粪便和胃液隐血阳性检测例数

组别	总例数	凯创试剂卡	沃文特试剂卡	匹拉米洞化学法	联合免疫法	联合免疫法		
						Tf	Hb	Tf+Hb
正常粪便	200	2	4	28	2	0	2	0
异常粪便	200	188	185	146	192	137	190	135
正常胃液	56	0	0	2	0	0	0	0
异常胃液	56	48	48	52	45	10	38	3

表 3 粪便隐血检测结果分析

组别	临床灵敏度	临床特异性	阳性似然比	阴性似然比	尤登指数	临床符合率
凯创试剂卡	94.0%	98%	47.00	0.04	0.92	96.0%
沃文特试剂卡	92.5%	99%	92.50	0.07	0.92	95.8%
匹拉米洞化学法	73.0%	86%	5.21	0.15	0.59	79.5%
联合免疫	96.0%	99%	96.00	0.03	0.95	97.5%

表 4 胃液隐血检测结果分析

组别	临床灵敏度	临床特异性	阳性似然比	阴性似然比	尤登指数	临床符合率
凯创试剂卡	85.7%	100.0%	无穷大	0.14	0.86	92.9%
沃文特试剂卡	85.7%	100.0%	无穷大	0.14	0.86	92.9%
匹拉米洞化学法	92.8%	96.4%	25.7	0.04	0.88	94.6%
联合免疫	80.4%	100.0%	无穷大	0.20	0.80	90.2%

表 5 3 种隐血方法检测粪便隐血结果的两两比较

组别	沃文特试剂卡	匹拉米洞化学法	联合免疫法
凯创试剂卡	$\chi^2=0.400, P>0.05$	$\chi^2=31.900, P<0.05$	$\chi^2=12.800, P<0.05$
沃文特试剂卡		$\chi^2=40.400, P<0.05$	$\chi^2=2.330, P>0.05$
匹拉米洞化学法			$\chi^2=40.400, P<0.05$

表 6 3 种隐血方法符合率比较

组别	凯创试剂卡	沃文特试剂卡	匹拉米洞化学法	联合免疫法	χ^2 值	P 值
粪便	96.0%	95.8%	79.5%	97.5%	219.200	0.000
胃液	92.9%	92.9%	94.6%	90.2%	6.670	0.083

3 讨 论

隐血检查对食管出血、消化性溃疡、消化道恶性肿瘤、痔疮等引起消化道出血的疾病诊断有重要价值,是目前大规模人群筛查消化道出血的简单可行的办法^[2]。作为诊断消化道疾病的常规筛查项目,已广泛用于临床实验室。化学法、血红蛋白单克隆抗体免疫胶体金法、血红蛋白与转铁蛋白联合免疫法是研究最多的 3 种隐血检测方法^[3-7]。

传统的化学法有愈创木酯法、联苯胺法、邻联甲苯胺法、匹拉米洞法等^[8]。本试验采用的是匹拉米洞法。其检测原理基于血红蛋白中的亚铁血红素具有类似过氧化酶活性,催化 H_2O 作为电子受体使色原物质氧化而显色,呈色的深浅可以反映血红蛋白的多少。血红蛋白胶体金法采用抗人血红蛋白或抗红细胞基质的单克隆抗体,与样本中人血红蛋白表位特异性结合,可测出微量血红蛋白。近年来研究较多是转铁蛋白和血红蛋白联合免疫法。转铁蛋白主要存在于血浆中,是一种由嗜酸性粒细胞释放的结合三价铁的糖蛋白,属于 β_1 微球蛋白,占血浆蛋白总量的 0.3%~0.5%,主要在肝脏合成,其主要功能是通过膜受体介导的内吞作用将细胞外的铁转入细胞内^[9]。每分子转铁蛋白可以结合 2 个铁原子。在消化道出血的疾病中,与血红蛋白相似,转铁蛋白也会漏入粪便并排出体外。健康人的粪便中几乎不存在转铁蛋白,而在胃肠道出血的粪便大量存在。

而且,粪便中的转铁蛋白抵抗消化酶和细菌的作用较强,在粪便中稳定性较血红蛋白高^[10]。联合免疫法同时检测样本中的血红蛋白和转铁蛋白,任一蛋白的结果为阳性,则为隐血阳性。

本课题对以上 3 种方法进行了检测范围的比较。联合免疫法的最低检测限为 10 ng/mL,此刻仅有血红蛋白条带,当达到 600 ng/mL 时,转铁蛋白区出现条带,当血红蛋白浓度达到 2.5 mg/mL 时,由于钩状效应,血红蛋白检测区红带消失,但转铁蛋白的含量仍在其检测范围内,故检测区仅有转铁蛋白一条条带,本次试验做的最高血红蛋白浓度为 20 mg/mL,转铁蛋白检测区仍出现阳性结果;对于血红蛋白免疫法,当血红蛋白的浓度高于 2.5 mg/mL (沃文特试剂卡),或高于 10 mg/mL (凯创试剂卡)时,出现钩状效应,血红蛋白单克隆抗体免疫胶体金将出现假阴性。匹拉米洞化学法的最低检测限为 2 500 ng/mL,随着血红蛋白浓度越高,其阳性越强。从以上试验结果,可以得出以下结论,Artron 公司制作的联合免疫法试剂卡的血红蛋白检测区的最低检测限最低,且当血红蛋白浓度很高时,该试剂卡的转铁蛋白检测区避免了钩状效应的假阴性。

灵敏度检测结果显示,化学法的灵敏度最低,但化学法不存在钩状效应,当血红蛋白浓度很高(血便、柏油样便)时,仍能检出。联合免疫法的灵敏度最高,能检出微量出血。由于胃肠道出血的样本中血红蛋白和转铁蛋白的含量比为 5.4:1^[11],临床的高浓度血红蛋白样本中,转铁蛋白的含量仍在其检

测范围内,本试验没有出现转铁蛋白的钩状效应。沃文特和凯创试剂卡胶体金的灵敏度检测结果无明显的差异。

特异性检测结果显示,化学法特异性差,血红蛋白法和联合免疫法特异性高。此结果与方法的检测原理相关。化学法不仅易受食入食物(动物血、肉、肝脏、铁剂、蔬菜)的影响而呈假阳性,维生素 C 和一些具有还原作用的药物可以还原粪便中的过氧化物酶,血液在胃肠道内停留过久抗菌能力弱易被细菌分解破坏血红蛋白变性而呈假阴性^[8]。

200 份临床内镜确诊为消化道出血患者的粪便标本,凯创试剂卡胶体金、沃文特试剂卡胶体金、匹拉米洞化学法、联合免疫法检测出的假阴性例数分别为 12、15、54、8 例。有 8 例标本的外观无明显异常,四种试剂盒均为阴性,可能是出血量太微量,或者取样时未取到有意义的部分;有 7 例标本为血便或者柏油样便,沃文特试剂卡胶体金因为钩状效应出现假阴性,凯创试剂卡胶体金有 4 例出现假阴性,但化学法和联合免疫法检测结果为阳性(联合免疫法出现转铁蛋白条带阳性)。该结果可能与凯创试剂卡胶体金的检测上限高于沃文特试剂卡胶体金,同时血红蛋白单克隆抗体免疫法的凯创与沃文特试剂卡均受钩状效应之限有关。54 例化学法阴性,但免疫法均阳性,可能与化学法的低灵敏度有关。对于胃液标本的隐血检测,化学法的阳性率明显高于免疫法,这与胃酸造成胃液 pH 低,使免疫法出现假阴性有关^[4],但是王永志^[5]的研究中,邻甲苯胺的化学法检测胃液标本时,灵敏度低于免疫法,可能与生产化学法试剂的厂家不同,导致其灵敏度的不同。在本课题胃液标本隐血试验中,发现当胃液为褐色、黑色时,化学法为阳性,但是免疫法却是阴性,可能原因是低 pH 破坏血红蛋白抗原决定簇,导致血红蛋白免疫法出现假阴性。低 pH 环境也影响抗原抗体反应的介质,从而导致免疫法的假阴性。当胃液的颜色正常时,化学法测定结果为阴性,但免疫法为阳性。这可能是胃部的微量出血,化学法是假阴性,这与化学法的低灵敏度有关。

阳性似然比、阴性似然比结合了敏感性、特异性、阳性预测值和阴性预测值的优点,既可以根据

患者有无某项报警症状来做预测,同时又不受被检人群中病变发生率的影响,可用于多种临床环境中,是一个相对独立的、更具临床意义的诊断性试验效果的评估指标。当阳性似然比 >10 或阴性似然比 <0.1 时,诊断或排除某种疾病的可能性就显著的增加。尤登指数,也称正确指数,是敏感度+特异性-1,是综合评价真实性的指数。理想的试验应为 1^[12]。综合凯创试剂卡胶体金、沃文特试剂卡胶体金、匹拉米洞化学法、联合免疫法检测粪便与胃液的以上指数结果的分析,对于粪便标本的隐血检测,推荐血红蛋白免疫法和联合免疫法,弃用化学法;而对于胃液标本的隐血检测,推荐免疫法与化学法的联合检测。

参 考 文 献

- [1] 周燕荣. 恶性肿瘤死亡流行趋势与控制[J]. 中国肿瘤, 2011, 20(4): 256-258.
- [2] Villa E. Molecular screening for colon cancer detection[J]. Dig Liver Dis, 2000, 32(2): 173-177.
- [3] 袁乐永, 李 艳, 徐万洲, 等. 临床三种常规大便隐血检测方法的评价及其应用[J]. 现代检验医学杂志, 2012, 27(2): 73-76.
- [4] 李 月, 代震宇, 陈 觅. 免疫金标法与化学法检测胃液隐血方法学评价[J]. 重庆医科大学学报, 2014, 39(12): 1799-1801.
- [5] 王永志, 王 宏, 申亚丽, 等. 三种检测方法在胃液隐血试验中的临床应用评价[J]. 现代检验医学杂志, 2015, 30(5): 135-137.
- [6] 梁湘辉, 张洪艳, 刘文恩. 免疫血红蛋白法与转铁蛋白法检测胃液隐血结果比较[J]. 临床与实验医学杂志, 2013, 12(20): 1671-1672.
- [7] 张 松, 常 利, 高继书, 等. 转铁蛋白/血红蛋白双联胶体金法检测胃内容物潜血分析[J]. 河北医药, 2014, 36(22): 3402-3403.
- [8] 刘玉成, 罗春丽. 临床检验基础[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2013: 196-198.
- [9] 谢天培, 吴孟超. 肝癌细胞膜上转铁蛋白受体和去唾液酸糖蛋白受体数量的变化[J]. 第二军医大学学报, 1997, 18(1): 6-8.
- [10] Sugi K, saioh O, Hirata I, et al. Fecal lactoferrin as a marker for disease activity in inflammatory bowel disease; comparison with other neutrophil-derived proteins[J]. Am J Gastroneterol, 1996, 91(5): 927-934.
- [11] 袁响林, 蔡 娟. 粪便隐血实验: 转铁蛋白和免疫法在大肠癌和癌前病变高危人群筛查中检测效能的比较[D]. 武汉: 华中科技大学, 2012: 22-24.
- [12] 周 新, 涂植光. 临床生物化学和生物化学检验[M]. 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2003: 36-40.

(责任编辑: 张辉洁)