

过程并记录。

## 2 结 果

2011 年 1~12 月, FAME 全自动酶联免疫分析系统共出现了 28 次吐板现象。分别为初检 HBsAg 4 次、抗-HCV 5 次、抗-HIV 4 次、抗-TP 3 次, 复检 HBsAg 3 次、抗-HCV 2 次、抗-HIV 2 次、抗-TP 5 次。

## 3 讨 论

吐板是指由于各种原因造成仪器放弃了对微板的自动处理, 并把该微板从仪器中清理出来的现象。作者对吐板现象进行了原因跟踪并探讨了相应对策: (1) 洗涤液原因引起注液针堵塞导致吐板现象发生。洗涤液出现结晶, 或洗涤液放置时间过长后出现茶垢样细小絮状物引起的注液针堵塞。其对策为严格控制实验室温度(15~30 ℃), 洗涤液配制前经 37 ℃水浴预处理, 配置后充分混匀。对于絮状物引起的堵塞, 每天工作结束所倒掉桶内剩余洗液。(2) 标本原因引起吸液针堵塞导致吐板现象发生。样本收缩不完全或抗凝不充分, 导致样本中带有纤维蛋白, 或加样时不小心带有细小的血块均可导致吸液针堵塞, 引起洗板故障而吐板<sup>[2]</sup>。其对策为严格标本采集制度, 并充分混合均匀, 充分离心, 加样完毕后检查微板中是否有血凝块或纤维蛋白, 必要时给予手工处理。(3) 试剂量不足或试剂槽内有气泡时, FAME 全自动酶联免疫分析系统感应不上无法加试剂而将微板吐出。其对策为试剂槽内试剂量要稍多于提示的试剂需要量, 加试剂时沿试剂槽壁缓缓倒入, 避免产生气泡。(4) 因孵育超时而致微板吐出。当仪器需要处理的标本较多时, 造成集中洗板现象, 有的微板在孵育槽内等待洗板超

过了孵育时间的宽容度而将微板退出<sup>[3]</sup>。其对策为适当调整孵育的宽容度到 6%~8%<sup>[4]</sup>, 实验编程时要充分考虑实验中所需洗板的次数及相邻洗板间隔时间, 合理安排工作表。(5) 洗板头不注液或仅有少许气泡, 并且吸液泵工作声音出现异常, 原因是洗液里有杂质或者蒸馏水不纯使得洗液桶里的滤网被堵塞<sup>[5]</sup>。其对策为打开洗液桶, 取出带有滤网的管道, 将滤网上的堵塞物彻底清除干净, 重新安上即可。另外, 设备的保养维护至关重要。按要求对设备的机械部分坚持日、周、月维护, 对设备主控微机的实验数据及时备份并清理, 设备要定期校准, 以确保处于良好的工作状态。

## 参考文献

- [1] 武峰. Microlab FAME 全自动酶免分析系统常见故障及排除方法[J]. 中国医学装备, 2007, 4(10): 49-50.
- [2] 闵志军, 张建伟, 张力超, 等. 全自动酶标分析系统常见故障及处理[J]. 中国输血杂志, 2006, 19(3): 225.
- [3] 杨永毅, 王军, 罗蓉, 等. 全自动酶免分析系统工作流程的优化[J]. 中国输血杂志, 2007, 20(2): 134.
- [4] 葛红卫, 王鸿捷, 张爱红, 等. FAME 全自动酶标分析系统的应用[J]. 中国输血杂志, 1998, 11(3): 122-124.
- [5] 郭云欣, 陈元锋, 蒋保云, 等. FAME 全自动酶标分析系统应用中的问题与对策[J]. 山东医药, 2002, 21(3): 43.

(收稿日期: 2012-06-30)

# 抗-HBc 在 HBsAg 灰区再确认试验的应用研究

张汉奎, 卢建强, 阮小倩, 杜满兴, 能继红(中山大学附属中山医院检验医学中心, 广东中山 528403)

**【摘要】 目的** 探讨乙型肝炎病毒核心抗体(抗-HBc)在乙型肝炎病毒表面抗原(HBsAg)灰区再确认试验的应用价值。**方法** 挑选 HBsAg 检测为灰区且抗-HBc 阳性 120 例; HBsAg 检测为灰区且抗-HBc 阴性 120 例; 对研究样本做双份复检, 复检双孔均阴性且小于或等于 0.7 确认为阴性, 复检双孔均阳性且双孔 S/CO 均大于 1.3 确认为阳性, 其余实验对象 6 个月后复检。复检同初检一样对处于灰区的样本进行确认试验, 但确认后仍为灰区的样本加做 HBV-DNA 检测。HBV-DNA>1 000 copies/mL 确认为阳性, 其余样本仍判定灰区。**结果** 样本抗-HBc 阳性 HBsAg 灰区真阴性为 19 例(15.8%), 抗-HBc 的 S/CO 值为 0.0~0.3 时真阴性为 2 例(2.6%), 抗-HBc 阴性 HBsAg 灰区真阴性为 110 例(91.7%), 差异具有统计学意义( $P<0.05$ ); 同时抗-HBc 阳性 HBsAg 灰区的真阳性为 34 例(28.3%), 抗-HBc 阴性 HBsAg 灰区的真阳性 4 例(3.3%), 差异具有统计学意义( $P<0.05$ ); 抗-HBc 阳性时 HBsAg 灰区 53 例(45.2%), 抗-HBc 阴性 HBsAg 灰区 114 例(95.0%), 差异也具有统计学意义( $P<0.05$ )。**结论** 抗-HBc 尤其是其高滴度或阴性的结果来判断 HBsAg 灰区的真阳性或真阴性的价值显著。

**【关键词】** 乙型肝炎病毒表面抗原; 乙型肝炎病毒核心抗体; 灰区

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2012.23.066 文献标志码: B 文章编号: 1672-9455(2012)23-3021-02

目前, 乙型肝炎病毒表面抗原(HBsAg)仍是乙型肝炎病毒(HBV)感染诊断的首要倚重实验室指标, 其检测已广泛应用于临床实践中。虽然目前免疫检测已经出现了微粒子酶免发光、电化学发光等方法, 但在我国临床实验室仍广泛采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测 HBsAg, 因其有操作简便、快速、成本低的优势。但 ELISA 有诸多影响检测结果的因素, 导致检测结果的重复性较差, 特别是有一部分处于阴、阳性判断值附近的临界结果, 即灰区结果<sup>[1]</sup>。如果忽视灰区结果, 易造成低浓度 HBsAg 表达人群的漏检和高浓度类风湿因子等因素引起的误诊<sup>[2]</sup>。有条件的单位可采用 HBsAg 定量或者 HBV-DNA 检测来综合分析灰区报告。然而, 广大基层医院特

别社区卫生站目前还不能完成确认实验及 HBsAg 定量或者 HBV-DNA 检测。未感染 HBV 者乙型肝炎病毒核心抗体(抗-HBc)为阴性, 当机体感染 HBV 后产生抗-HBc。而抗-HBc 单独阳性, 还可作为隐匿性 HBV 感染的粗略筛选指标<sup>[3]</sup>。因此, 作者利用抗-HBc 的检验结果来协助 HBsAg 灰区真伪的再确定研究, 取得了满意的成果, 现报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选择 2009 年 3 月至 2011 年 3 月本院体检、门诊人群中血清 HBsAg 检测为灰区且抗-HBc 阳性 120 例, HBsAg 检测为灰区且抗-HBc 阴性 120 例, 共 240 例, 其中男 132 例, 女 108 例, 年龄 5~73 岁。

**1.2 仪器与试剂** 检测仪器为 Labstem MK3 酶标仪; HBsAg 试剂由中山生物工程有限公司提供, HBsAg 试剂盒 cut off 值为 0.105。美国 ABI 型 PCR 扩增仪, 由电脑自动分析计算 HBV-DNA 定量结果, 结果以 copy/mL 表示。HBV-DNA 试剂盒由中山医科大学达安基因股份有限公司提供。

**1.3 质控品** 酶联免疫吸附试验(ELISA)检测抗-HBs 室内质控品浓度为 2.0 U/mL, 由康彻思坦生物提供; ELISA 检测抗-HBc 室内质控品浓度为 0.5 IU/mL, 由康彻思坦生物提供; HBV-DNA 试验的室内质控品由中山医科大学达安基因股份有限公司提供。

**1.4 方法**

**1.4.1 灰区范围** 本研究参照伍伟健和郭如华<sup>[4]</sup>的报道, 采用“ $\bar{x} \pm 2s$ ”作为室内质量控制限时, 在符合质量控制规则的情况下, 将灰区设置为  $1 \pm 2CV$  ( $CV$  为临界阳性物的变异系数), 根据本实验室  $CV$  设定为 15%, 即灰区范围为 0.7~1.3。

**1.4.2 实验方法** 全部实验操作严格按试剂盒说明书及本实验室标准操作程序(SOP)文件进行。对处于灰区的研究对象样本做双份复检, 复检双孔均阴性且小于或等于 0.7 确认为阴性, 复检双孔均阳性且双孔 S/CO 均大于 1.3 确认为阳性, 其余对象 6 个月后复检。复检试验同样对处于灰区的样本做双份复检, 复检双孔均阴性且小于或等于 0.7 确认为阴性, 复检双孔均阳性且双孔 S/CO 均大于 1.3 确认为阳性。其余样本加做 HBV-DNA 检测。HBV-DNA>1 000 copy/mL 确认为阳

性, 其余样本仍判定灰区。

**1.5 统计学处理** 用 SPSS 12.01 统计软件包进行统计学分析。抗-HBc 阳性组、阴性组的例数比较采用  $\chi^2$  检验或精确概率法,  $P<0.05$  为差异具有统计学意义。

**2 结 果**

**2.1 抗-HBc 阳性组再确认结果** 抗-HBc 阳性组再确认真阳性率、真阴性率分别为 28.3%、15.8%, 处于灰区样本率仍达 55.8%; 抗-HBc 阴性组再确认真阳性率、真阴性率分别为 3.3%、91.7%, 处于灰区样本率显著下降到 5.0%, 差异具有统计学意义( $\chi^2=138.85, P<0.05$ )。见表 1。

**2.2 抗-HBc 阳性时处于灰区 HBsAg 再确认结果** 抗-HBc 阳性时处于灰区 HBsAg 再确认真阴性可能性为 15.8%, 尤其是当抗-HBc 的 S/CO 值为 0.0~0.3 时再确认为真阴性的可能性只有 2.6%, 与样本抗-HBc 阴性时处于灰区 HBsAg 再确认为真阴性可能性达 91.7%相比, 差异具有统计学意义( $\chi^2=113.21, P<0.05$ )。抗-HBc 阳性时处于灰区 HBsAg 再确认为真阳性可能性为 28.3%, 与样本抗-HBc 阴性时处于灰区 HBsAg 再确认为真阳性可能性为 3.3%相比, 差异具有统计学意义( $\chi^2=29.92, P<0.05$ )。抗-HBc 阳性时处于灰区 HBsAg 再确认率为 45.2%, 与样本抗-HBc 阴性时处于灰区 HBsAg 再确认率 95.0%相比, 差异也具有统计学意义( $\chi^2=105.29, P<0.05$ )。见表 1。

表 1 抗-HBc 在 HBsAg 灰区再确认试验的试验结果[n(%)]

| 抗-HBc(S/CO) | n   | 复检结果      |         |           | 6 个月后结果 |    |    | HBV-DNA<br>>1 000 copy/mL | 灰区       | 真阳性      | 真阴性       |
|-------------|-----|-----------|---------|-----------|---------|----|----|---------------------------|----------|----------|-----------|
|             |     | 灰区        | 阳性      | 阴性        | 灰区      | 阳性 | 阴性 |                           |          |          |           |
| 0.0~0.3     | 78  | 77(98.7)  | 1(11.3) | 0(0.0)    | 61      | 14 | 2  | 24(30.8)                  | 52(66.7) | 24(30.8) | 2(2.6)    |
| 0.3~1.0     | 42  | 33(78.6)  | 4(9.1)  | 5(11.9)   | 16      | 5  | 12 | 10(23.8)                  | 15(35.7) | 10(23.8) | 17(40.5)  |
| >1.0(阴性)    | 120 | 18(15.0)  | 1(0.8)  | 101(84.2) | 7       | 2  | 9  | 4(3.3)                    | 6(5.0)   | 4(3.3)   | 110(91.7) |
| 合计          | 240 | 128(53.3) | 6(2.5)  | 106(44.2) | 84      | 21 | 23 | 38(15.8)                  | 73(30.4) | 38(15.8) | 129(53.8) |

**3 讨 论**

HBcAg 作为存在于肝细胞核内的一种靶抗原, 富含碱性氨基酸, 免疫原性强, 刺激机体免疫系统产生抗-HBc。抗-HBc 随 HBsAg 产生后而产生, 且其存在的时间长。另外抗-HBc 还不因 S 基因突变引起的 HBsAg 变化而变化, 因此当机体感染 HBV 后, 典型性感染时抗-HBc 保持阳性, 而未感染 HBV 者抗-HBc 为阴性, 且单独 HBsAg 出现的时间很短及频率也很小。这与本文资料观察到的当样本抗-HBc 阴性时处于灰区 HBsAg 再确认为真阴性可能性达 91.7%相符; 高效价的抗-HBc 阳性, 常见于急慢性肝炎和 HBsAg 携带者, 表明 HBV 复制可能仍活跃<sup>[5]</sup>。而此时患者可因抗病毒等治疗原因导致 HBsAg 突变株的产生, 或由于方法的局限性导致 HBsAg 检验信号减弱, 而致 HBsAg 处于灰区, 这种情况与本文资料观察到的当抗-HBc 的 S/CO 值为 0.0~0.3 时再确认为真阴性的可能性只有 2.6%相符。

综上所述, 利用抗-HBc 尤其是其高滴度或阴性的结果来判断 HBsAg 灰区的真阳性或真阴性的价值显著, 为处理 HBsAg 灰区问题时提供一个新的方法。

**参考文献**

[1] 季育华, 陶义训. 影响酶联免疫吸附试验结果的操作因素[J]. 检验医学, 2006, 21: 4749.

[2] 黄芬, 王茂峰, 万汝根. 体检人群乙型肝炎表面抗原检测弱反应的分析与对策[J]. 浙江实用医学, 2010, 15(3): 230-231.

[3] Vitale F, Tramuto F, Orlando A, et al. Can the serological status of anti-HBc alone be considered a sentinel marker for detection of occult HBV infection[J]. J Med Virol, 2008, 80: 577-582.

[4] 伍伟健, 郭如华. ELISA 试验灰区设置方法的探讨[J]. 中国生物制品学杂志, 2008, 21(10): 911-912.

[5] 毛远丽. HBV 血清标志物实验室检测的临床意义[J]. 中华检验医学杂志, 2010, 33(4): 382-384.

(收稿日期: 2012-05-20)